

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y
MONENSINA SOBRE EL METABOLISMO RUMINAL Y DIGESTIÓN EN
TRACTO TOTAL EN NOVILLOS HOLSTEIN ALIMENTADOS CON UNA
DIETA DE FINALIZACIÓN**

TESIS

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

PRESENTA:

JESÚS ANDRÉS FIERROS RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MARTÍN FRANCISCO MONTAÑO GÓMEZ

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2019

Efecto de la suplementación de aceites esenciales y monensina sobre el metabolismo ruminal y digestión en tracto total en novillos Holstein alimentados con una dieta de finalización. Tesis presentada por Jesús Andrés Fierros Rodríguez COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS, que ha sido aprobada por el siguiente comité:

Dr. Martin Francisco Montaña Gómez

Director

M.C. Miguel Ángel Vega Cázares

Asesor

Dr. Juan Octavio Chirino Romero

Asesor

M.C. Ramón Manuel Valenzuela Padilla

Asesor

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez

Asesora

Mexicali, Baja California, México.

Septiembre de 2019

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Martin Francisco Montaña Gómez por aceptarme bajo su dirección durante mi estancia en la maestría, su apoyo y confianza en el tiempo que se realizó el presente trabajo, y principalmente por compartir sus conocimientos y experiencias como investigador.

A los miembros de mi comité M.C. Miguel Ángel Vega Cázares, Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez, Dr. Juan Octavio Chirino Romero y M.C. Ramón Manuel Valenzuela Padilla por el apoyo brindado durante mis estudios de maestría así como para la realización del proyecto.

A mis compañeros y amigos que compartieron conmigo esta etapa en mi formación académica que han hecho de mi estancia en el instituto un recuerdo placido, en especial a Martha Aracely Calderón García, Felicitas Mireya Durán Roldán y Fernando Israel Inzunza.

A la coordinadora de maestría la Dr. Olga Maritza Manríquez Núñez por todo su apoyo y paciencia en mi estancia.

A el trabajador del área del metabólico y amigo Jesús Guillermo López por la ayuda durante el proyecto.

A la Universidad Autónoma de Baja California y al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinaria.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado, lo cual hizo posible este logro. Así mismo por el apoyo otorgado para el sabático del Dr. Dr. Martin Francisco Montaña Gómez.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado para ti madre, la mujer que más admiro y quiero, tú que supiste como guiarnos a mí y a mis hermanos por un camino en el cual podamos desarrollarnos y crecer, e ir alcanzando nuestras metas.

A mis tíos Aristeo Rodríguez García e Isaías Fierros Paredes por apoyarme para continuar estudiando.

A mis hermanos que han sido un gran apoyo durante mí desarrollo académico.

RESUMEN

Se utilizaron cuatro novillos Holstein (189 ± 13 Kg) clínicamente sanos, habilitados con cánulas tipo "T" en rumen y duodeno proximal, Los novillos fueron adaptados a las dietas experimentales 10 días previos al inicio del experimento e identificados con aretes con numeración progresiva del 1 al 4. La dieta basa (DB) fue formulada (BMS) en base a maíz hojueleado al vapor. Se añadió 0.3% de óxido crómico como un marcador digestivo inerte. El consumo (BMS) se ajustó al 2.2% del peso vivo, ofreciéndose en forma diaria dividido en dos porciones iguales a las 08:00 y 20:00 hrs. Los tratamientos consistieron en la suplementación diaria (g/c) de una mezcla de un ionóforo (Rumensin) y aceites esenciales (Xtract-R 7065): TMT1: Rumensin 0, Xtract 0; TMT2: Rumensin 0.70, Xtract 0; TMT3: Rumensin 0, Xtract 0.50; TMT4: Rumensin 0.70, Xtract 0.50. No se observó efecto de los tratamientos sobre la digestión ruminal de MO, FDN, ni almidón ($P > .10$). De la misma manera, el flujo a duodeno de MO, FDN, almidón, N, NH-N, ni N microbial fue afectado por los tratamientos ($P > .10$). La suplementación de Xtract-R 7065 (cinamaldehído, eugenol y capsaicina) y Rumensin 90 (Monensina) solos y/o en combinación en las dosis utilizadas en el presente experimento no afectaron digestión ruminal ni digestión en tracto total.

Palabras clave: Aceites esenciales, monensina, metabolismo, rumiantes

ABSTRACT

Four (189 ± 13 Kg) Holstein steers clinically healthy, were empowered with cannulas in rumen and proximal duodenum "T" type. Steers were adapted to the experimental diets 10 days prior to the beginning of the experiment and identified with earrings with progressive numbering from 1 to 4. The diet was formulated (BMS) based on steamed flaked corn, 0.3% chromic oxide was added as a marker inert digestive. Consumption (BMS) was adjusted to 2.2% of live weight, offering every day divided into two parts of equal at 08:00 and 20:00 hrs. The treatments consisted of daily supplementation (g/c) of a mixture of an Ionophore (Rumensin) and essential oils (Xtract-R 7065): TMT1: 0 Rumensin, Xtract 0; TMT2: 0.70 Rumensin, Xtract 0; TMT3: 0 Rumensin, 0.50 Xtract; TMT4: 0.70 Rumensin, 0.50 Xtract. Supplementation of Xtract-R 7065 (cinnamaldehyde and eugenol and capsaicin) and Rumensin 90 (Monensin) alone or in combination in the doses used in this experiment did not affect digestion, ruminal and total tract digestion. In the same way, the flow to duodenum of MO, NDF, starch, N, NH-N and microbial N was affected by the treatments ($P > .10$). Supplementation of Xtract-R 7065 (cinnamaldehyde and eugenol and capsaicin) and Rumensin 90 (Monensin) alone or in combination in the doses used in this experiment did not affect digestion, ruminal and total tract digestion.

Keywords: Essential oils, monensin, metabolism, ruminant

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA.....	II
RESUMEN.....	III
LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
INTRODUCCION	1
HIPÓTESIS	4
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
REVISION DE LITERATURA	6
Microbiología ruminal	6
Importancia del rumiante	6
Digestión ruminal.....	7
Ecosistema microbiano de la fermentación ruminal.....	9
Aceites esenciales	11
Origen y clasificación de aceites esenciales.....	11
Actividades biológicas de los aceites esenciales.....	14
Efectos de los aceites esenciales en la fermentación ruminal.....	17
Ionóforos	25
Mecanismo de acción	26
Monensina.....	28
Efecto de monensina sobre eficiencia digestiva.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS	32
Localización del área de estudio.	32
Unidad Experimental.....	32
Dietas	33
Diseño experimental	36
Duración del experimento	37
Procedimiento de muestreo.....	37

Análisis de laboratorio	38
Cálculos y análisis de digestión	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	44
LITERATURA CITADA.....	45

LISTA DE CUADROS

Pág.

Tabla 1. Clasificación funcional de las bacterias ruminales	10
Tabla 2. Fuentes de aceites esenciales	11
Tabla 3. Ingredientes y composición nutrimental de las dietas experimentales	34
Tabla 4. Tratamientos experimentales.....	35
Tabla 5. Asignación de tratamientos y distribución de acuerdo al diseño experimental.....	36
Tabla 6. Efectos del tratamiento sobre las características de la digestión ruminal, pos-ruminal y del tracto total	42

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Fermentacion ruminal de los diferentes alimentos y sus destinos.	9
Figura 2. Vías metabólicas de la biosíntesis de los componentes activos del extracto de la planta principal	13
Figura 3. Principales componentes de los aceites esenciales de monoterpenoides (A), sesquiterpenoides (B) y fenilpropanoides (C)	14
Figura 4. Efecto de la monensina (M) en el flujo de iones en S. bovis.....	28

INTRODUCCION

Un objetivo de los investigadores de nutrición de rumiantes es manipular el ecosistema microbiano ruminal para mejorar la eficiencia de conversión de alimentos durante su fermentación por parte de los microorganismos ruminales debido a que este es un proceso que tiene ineficiencias energéticas (perdidas de metano) y proteicas (perdidas de N amoniacal) que limitan el rendimiento de la producción y contribuye a la liberación de contaminantes al medio ambiente (Calsamiglia et al., 2007). Por lo cual se han usado promotores de crecimiento antimicrobiano (antibióticos) durante más de 50 años para prevenir enfermedades y trastornos metabólicos, además de mejorar la eficiencia alimenticia. Entre los antibióticos más usados en producción de carne tenemos los ionóforos (monensina y lasalocida) que se han utilizado con éxito durante décadas para manipular la fermentación ruminal reduciendo la pérdida de energía al aumentar la proporción de propionato y disminuir la producción de acetato y butirato, además del metano (Ornaghi et al., 2017). Sin embargo, el uso de antibióticos como promotores de crecimiento como los ionóforos en las dietas para los rumiantes se enfrenta a una menor aceptación social debido a la aparición de residuos en la leche y carne y sus efectos en la salud pública (Yang et al., 2009a). En consecuencia el uso rutinario de estos modificadores tradicionales se ha prohibido dentro de la Unión Europea a partir del 1 de enero de 2006 sobre la base del principio de precaución de que las bacterias desarrollarían resistencia (Diario Oficial de la Unión Europea, 2003). Por esta razón se ha empezado a investigar nuevas alternativas que manipulen la microflora gastrointestinal en el ganado. Una

de estas alternativas es el uso de aceites esenciales que son compuestos aromáticos volátiles presentes en muchas plantas que se extraen por vapor y/o destilación de agua, y químicamente son una mezcla de metabolitos secundarios comúnmente compuestos de terpenoides y fenilpropanoides (Calsamiglia et al., 2007). Las revisiones recientes de la literatura han descrito el potencial de los aceites esenciales para aumentar la producción animal promoviendo la fermentación microbiana del rumen y alterando el metabolismo del mismo (Benchaar et al., 2008). Sin embargo, la mayoría de las investigaciones realizadas hasta la fecha sobre aceites esenciales han sido *in vitro* y a corto plazo (Busquet et al., 2005 a y b; Cardozo et al., 2005; Castillejos et al., 2006). A la fecha se han reportado pocos estudios *in vivo*, Yang et al. (2009a), probaron cinamaldehído, componente principal del aceite de canela, en distintas dosis en novillas de carne, reportando que en dietas altas en concentrado con dosis bajas de cinamaldehído produjo pequeños aumentos en la disponibilidad de nutrientes en el rumen debido al aumento de ingesta de alimento y una mayor digestión ruminal de materia orgánica; a dosis media y alta no observaron significancia. Yang et al. (2010) probaron el eugenol que es el componente principal del aceite de clavo, en distintas dosis en novillas de carne reportando que el eugenol tendió a aumentar el flujo de proteína a intestino y modificar los AGV's, disminuyendo acetato y aumentando propionato, lo que indica que mejora la tasa de crecimiento. Por su parte Rodríguez et al. (2012) probaron distintas dosis de capsaicina que es el aceite esencial de pimiento picante, en novillos de carne reportando que el extracto de capsaicina estimuló la ingesta de materia seca y agua, modificando los patrones de consumo en dietas altas

en concentrado. Al mismo tiempo, Geraci et al. (2012) al evaluar una combinacion de cinamaldehído, eugenol y capsaicina vs monensina en novillos de engorda observaron que los novillos que recibieron la combinacion de aceites esenciales se desempeñaron de una manera equivalente a los que recibieron la monensina en dietas altas en concentrado y que algunas variables productivas mejoraron con la combinacion de aceites esenciales. Por lo tanto se requiere investigar mas sobre los efectos sobre la fermentacion microbiana del rumen y su metabolismo *in vivo* ademas de comparar combinaciones de aceites esenciales.

Nuestro estudio tiene como objetivo evaluar una mezcla de aceites esenciales (cinamaldehído, eugenol y capsaicina) y monensina sobre digestion ruminal y metabolismo en tracto total en novillos alimentados con una dieta de crecimiento- finalización.

HIPÓTESIS

La inclusión de aceites esenciales y monensina pueden influir sobre la función digestiva en bovinos alimentados con dietas de crecimiento-finalización.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de suplementación de aceites esenciales y monensina en una dieta de crecimiento-finalización para bovinos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Evaluar el efecto de los tratamientos sobre función ruminal.

- ✓ Evaluar el efecto de los tratamientos sobre digestión en tracto total

REVISION DE LITERATURA

Microbiología ruminal

Importancia del rumiante

Los rumiantes constituyen una importante fuente de alimento y otros productos para los seres humanos, a causa de su adaptación, debido a que pueden satisfacer sus necesidades energéticas a través de la utilización de forrajes que el humano no puede digerir y son relativamente abundantes en la superficie de la tierra, por lo cual pone a los rumiantes entre los animales de más alto interés zootécnico, la utilización de estos alimentos fibrosos es posible, gracias a la existencia de un preestómago que constituye una cámara de fermentación continua donde una gran población microbiana vive en simbiosis con el animal, lo que le permite al hombre aprovechar de forma indirecta la energía almacenada en las plantas y convertirlas en alimento (carne, leche, etc)(Diaz et al., 2013).

Es de importancia en regiones desfavorecidas gracias a su capacidad de transformar pastos de mala calidad, ricos en pared vegetal y no aprovechable para el humano ni otros animales no rumiantes, en proteína de alta calidad dependiendo principalmente de la actividad bacteriana (Rotger, 2004).

La comunidad microbiana, que habita en el rumen, se caracteriza por su alta densidad de población, amplia diversidad y complejidad de interacciones, encontrando, en este órgano, representantes de los tres dominios: *Bacteria*, *Archaea* y *Eucarya*, protozoos ciliados, hongos anaerobios y bacteriófagos.

Los microorganismos ruminales viven en estrecha relación simbiótica (mutualista) con el animal rumiante. El hospedero les ofrece un nicho ambientalmente favorable, con un suministro continuo de alimentos y remoción de productos finales, mientras que los microorganismos proveen un servicio digestivo, que proporciona grandes cantidades de energía disponible al animal hospedero (Díaz et al., 2013).

Digestión ruminal

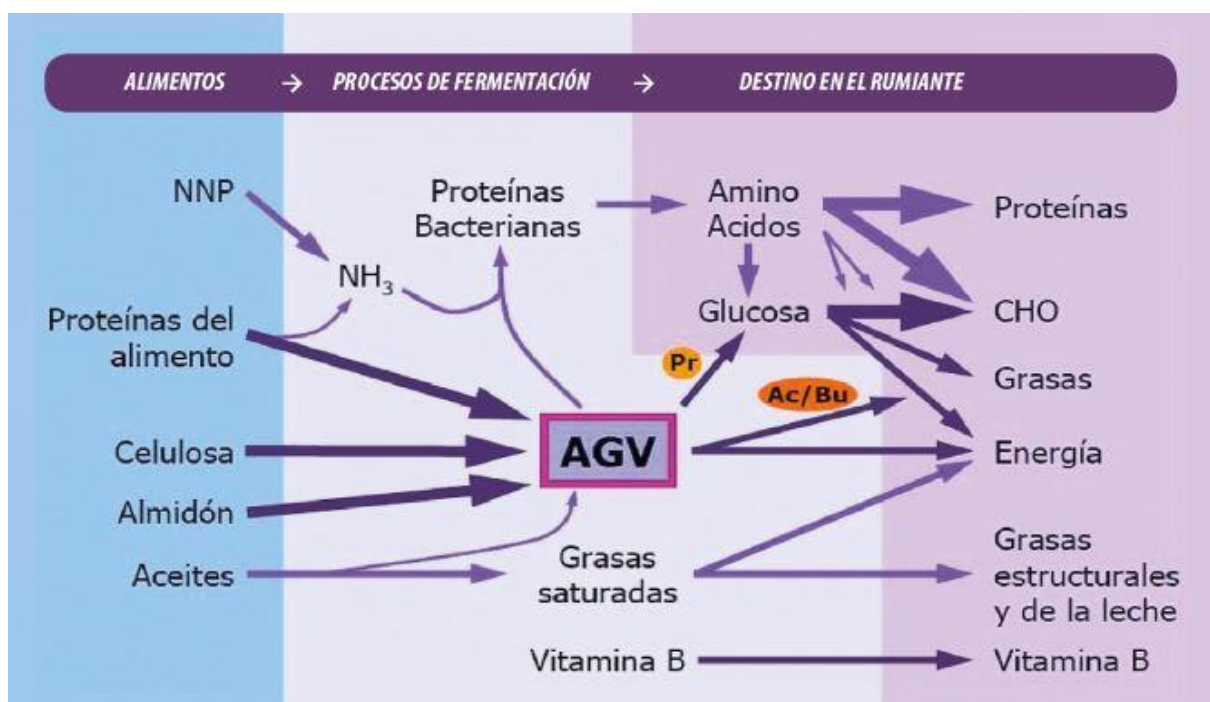
La fermentación ruminal es la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el rumen. Tiene aspectos que difieren de la digestión glandular propia de los animales monogástricos (como el cerdo). La digestión propia de la mayoría de los mamíferos ocurre en el estómago y el intestino delgado por enzimas producidas por el animal mismo, a esto se le denomina 'digestión autoenzimática'. En los rumiantes, la degradación de los sustratos moleculares por la acción de bacterias y otros microorganismos. Se realiza por una hidrólisis enzimática igual que en la digestión glandular; la diferencia mayor es que las enzimas digestivas en la fermentación son de origen microbiano, por lo que se le denomina 'digestión aloenzimática'. Esta digestión fermentativa es más lenta y los sustratos son

alterados en mayor grado que en la digestión glandular. Además la fermentación ocurre en un medio anaerobio. La digestión aloenzimática puede ocurrir en solo dos sitios del tracto gastrointestinal. Estos sitios son el ciego y/o colon por un lado y por otro lado en el retículo-rumen. En el primer caso hablamos de fermentación cecocólica (o postgástrica) y en el segundo caso de fermentación pregástrica, la cual corresponde a los rumiantes (Lier y Regueiro, 2008).

Podemos decir que la digestión microbiana que tiene lugar en el rumen es la piedra angular de la fisiología digestiva del rumiante. En el rumen se modifica el alimento consumido, se degradan la celulosa y los carbohidratos solubles, se altera la secuencia de aminoácidos de las proteínas y se sintetizan algunas vitaminas del Complejo B (Figura 1).

El hecho más sobresaliente de la digestión en los rumiantes es su capacidad para utilizar todas las formas de celulosa. La celulolisis falta en el reino animal, ningún mamífero segrega celulasa, que es la enzima que degrada la celulosa, pero las bacterias y los hongos celulolíticos, que conviven simbióticamente en el rumen, producen un complejo enzimático β -1-4 glucosidasas capaz de solubilizar entre 70 y 90 % de la celulosa. Los productos universales de la fermentación microbiana ruminal son los ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente los ácidos acético, propiónico y butírico, que constituyen más del 90 % de los ácidos que se producen en el rumen, el dióxido de carbono (CO_2) y el metano (CH_4) (Diaz et al., 2013).

Figura 1. Fermentación ruminal de los diferentes alimentos y sus destinos.



(Swenson y Reece, 1999)

Ecosistema microbiano de la fermentación ruminal.

Los microorganismos responsables de la digestión fermentativa incluyen bacterias, protozoos y hongos. Las bacterias representan la fracción de la población ruminal imprescindibles para la vida del rumiante. El neonato adquiere esta flora por el contacto directo con otros bovinos o bien por contacto indirecto a través de elementos contaminados como forrajes o agua de bebida. Si bien existe una amplia variedad de bacterias y alternativas para clasificarlas, resulta útil agruparlas en base a los sustratos que emplean y a los productos finales de su fermentación (Tabla 1) (Relling y Mattioli, 2003).

Tabla 1. Clasificación funcional de las bacterias ruminales

Grupo de bacterias	Característica funcional	Principales productos finales de su metabolismo
celulolíticas	Fermentan hidratos de carbono estructurales de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectinas)	AGV (específicamente acetato)
Amilolíticas	Fermentan hidratos de carbono de reservas de granos (almidón)	AGV (específicamente propionato)
Sacarolíticas	Fermentan hidratos de carbono simples (azúcares vegetales)	AGV (específicamente butirato)
Lactolíticas	Metabolizan el lactato	AGV (específicamente propionato)
Lipolíticas	Metabolizan las grasas	Ácidos grasos libres y AGV (específicamente propionato)
Proteolíticas	Degradan las proteínas	AGV y amoníaco (NH ₃)
Metanógenas	Producen metano	Metano (NH ₄)
Ureolíticas	Hidrolizan la urea	CO ₂ y NH ₃

(Relling y Mattioli, 2003).

Debe tenerse en cuenta que esta clasificación en grupos no es excluyente, sino que una misma especie bacteriana puede cumplir más de una función metabólica. Por otro lado los microorganismos actúan en sistemas cooperativos dentro de un complejo ecosistema, en el cual simplemente sobresale la acción de una especie como productora de una actividad, pero ésta depende de las condiciones que establecen en conjunto toda la biomasa (Relling y Mattioli, 2003).

Aceites esenciales

Origen y clasificación de aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) se definen como un grupo de metabolitos secundarios obtenidos de fracciones volátiles de plantas mediante un proceso de destilación al vapor (Patra y Saxena, 2010; Sartoratto et al., 2004). Los AE son producidos por las plantas como una forma de defensa además de ser atractivas para los insectos para la dispersión de pólenes y semillas, siendo específicos para cada planta y son extraídos de muchas de sus partes incluidas las hojas, las flores, los tallos, las semillas, las raíces y la corteza (Tabla 2), y sus concentraciones de AE dependerán de la etapa de crecimiento y las condiciones ambientales (Hart et al., 2008). El término "esencial" deriva de "esencia", que significa olor o sabor, y se relaciona con la propiedad de estas sustancias de proporcionar sabores y olores específicos a muchas plantas. Se caracterizan por tener una composición, naturaleza y actividades muy diversas (Calsamiglia et al., 2007).

Tabla 2. Fuentes de aceites esenciales

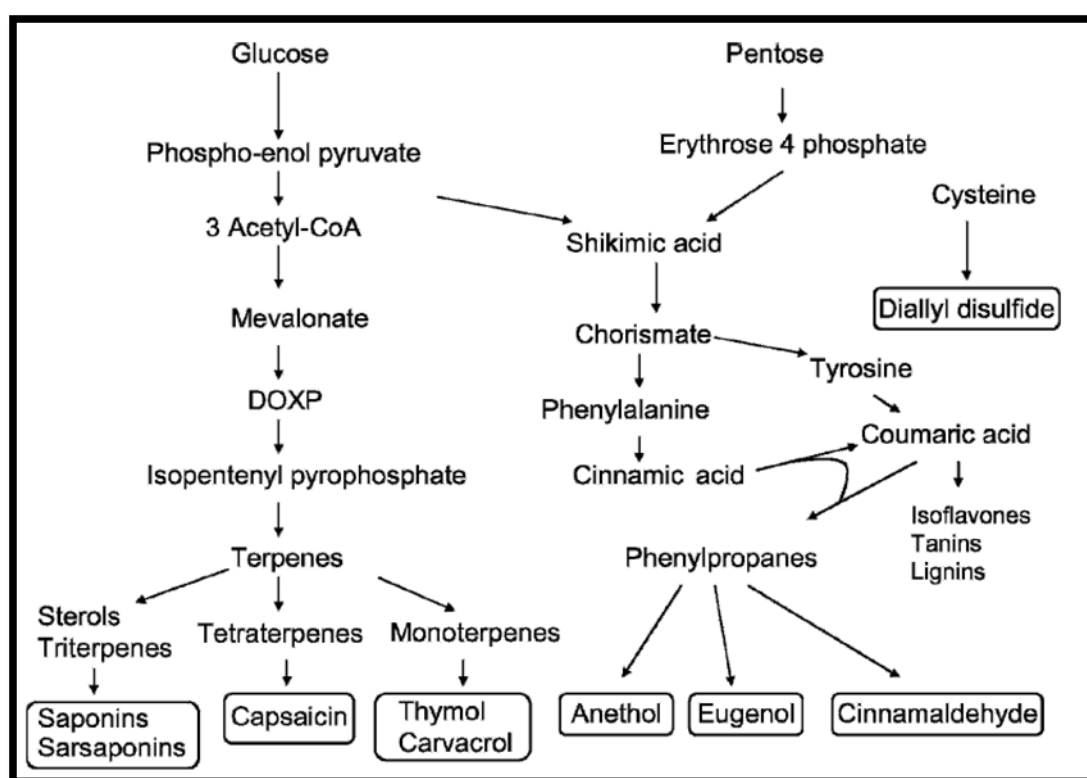
Hojas		Flores		Cascara	Semillas
Albahaca	Orégano	Manzanilla	Lavanda	Bergamota	Almendra
Hoja de laurel	Pachuli	Sabio de clary	Manuka	Toronja	Anís
Canela	Menta	Clavo	Mejorana	Limón	Apio
Eucalipto	Pino	Geranio	Naranja	Lima	Comino
Hierba de limón	Romero	Hisopo	Rosa	Naranja	Nuez moscada
Malaleuca	Gaulteria	Jazmín	Ylang Ylang	Mandarina	
Menta verde	Tomillo				
Árbol de te					
Madera		Corteza	Bayas	Resinas	Rizoma
Alcanfor	Cedro	Casia	Pimienta de Jamaica	Incienso	Jengibre
Palo de rosas	Sándalo	Canela	Enebro	Mirra	Yuca

(Hanif et al., 2019)

Los aceites esenciales son mezclas naturales muy complejas que pueden contener entre 20 y 60 componentes en concentraciones bastante diferentes. En general, estos componentes principales determinan las propiedades biológicas de los aceites esenciales. Los componentes incluyen dos grupos de origen biosintético distinto terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides, estos se originan a partir de diferentes precursores del metabolismo primario y se sintetizan a través de las vías metabólicas de mevalonato y ácido shikímico, respectivamente (Figura 2) (Gershenzon y Croteau, 1991; Calsamiglia et al., 2007). Los terpenoides son el grupo más numeroso y diversificado de metabolitos secundarios de las plantas, y ya se han descrito alrededor de 15,000 compuestos diferentes en la literatura (Gershenzon y Croteau, 1991). Estos compuestos se caracterizan por derivar de una estructura básica de 5 carbonos (C_5H_8), comúnmente llamada unidad de isopreno, y se clasifican según el número de estas unidades en su esqueleto. Dentro de los terpenoides, los componentes más importantes de los aceites esenciales de la mayoría de las plantas pertenecen a las familias monoterpenoides y sesquiterpenoides (Figuras 2 y 3) (Gershenzon y Croteau, 1991).

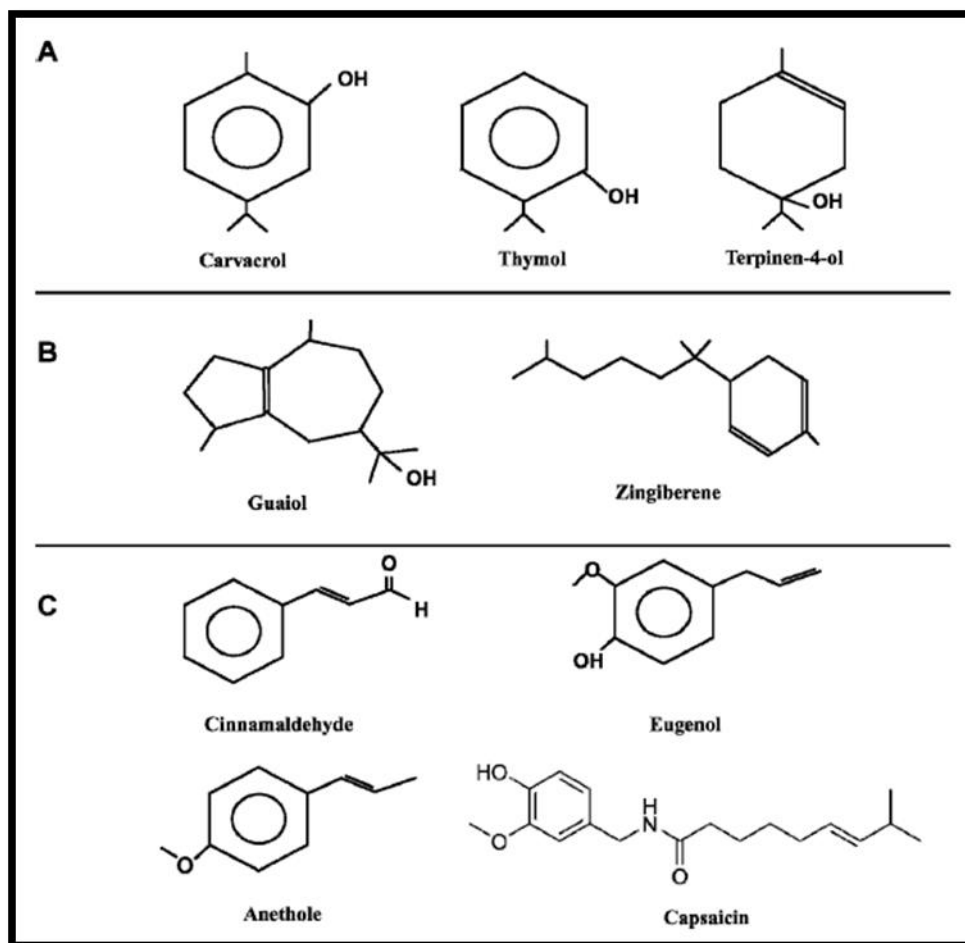
Los fenilpropanoides no son los compuestos más comunes de los aceites esenciales, pero algunas plantas los tienen en proporciones significativas. El término "fenilpropanoide" se refiere a compuestos con una cadena de 3 carbonos unidos a un anillo aromático de 6 carbonos. Los fenilpropanoides se derivan principalmente de la fenilalanina (un AA aromático) sintetizado por la vía metabólica del shikimate, que solo es funcional en microorganismos y plantas (Sangwan et al., 2001).

Figura 2. Vías metabólicas de la biosíntesis de los componentes activos del extracto de la planta principal



(Calsamiglia et al., 2007)

Figura 3. Principales componentes de los aceites esenciales de monoterpenoides (A), sesquiterpenoides (B) y fenilpropanoides (C)



(Patra y Saxena, 2010).

Actividades biológicas de los aceites esenciales

Actividad antibacterial

Generalmente la actividad antimicrobiana puede originarse a partir de un flujo de reacciones químicas que implican a la célula bacteriana total, esto se debe esencialmente al hecho de que, dado que los AE están compuestos por muchos grupos de compuestos químicos, estos últimos actúan de diferentes maneras, en general, las bacterias Gram positivas y las bacterias Gram negativas son susceptiblemente diferentes a la acción de los AE, debido a las diferencias estructurales de la pared celular de estos dos

grupos de bacterias (Nazzaro et al., 2019). El mecanismo por el cual los AE muestran una notable propiedad antimicrobiana, es debido a su hidrofobicidad que permite que el AE se divida en los lípidos de la membrana celular bacteriana acumulándose, lo que provoca una expansión del área de superficie de la membrana, causando una inhibición de las bombas de iones primarios y aumento de la permeabilidad de los protones, como resultado el potencial eléctrico y el gradiente de pH se disipan, pudiendo ser la principal inhibición del crecimiento celular (Sikkeman et al., 1994). El carácter lipófilo de los compuestos AE les permite penetrar en la membrana celular y permanecer entre los fosfolípidos y / o afectar la síntesis de los lípidos de la membrana, con el consiguiente cambio de la estructura de la membrana y con una alteración de su permeabilidad (Nazzaro et al., 2013). Comúnmente, los compuestos fenólicos presentes en los aceites esenciales como el eugenol, el timol y el carvacrol son responsables de las actividades antibacterianas de los aceites esenciales (Dorman y Deans, 2000). Estos compuestos pueden causar la coagulación del contenido celular y la interrupción de la membrana citoplásmica/flujo de electrones/fuerza impulsora del transporte de protones/activos (Pauli, 2001).

Actividad Anti fúngica

Muchos estudios han demostrado la efectividad de los AE contra las especies de hongos, aunque solo unos pocos han investigado el mecanismo de acción subyacente que ocasiona este efecto en los hongos. Por ejemplo se probaron varios AE obtenidos de plantas aromáticas (orégano, tomillo, lavanda, romero, hinojo y laurel) contra *Phytophthora infestans* y *Botrytis*

cinérea, hongos que afectan los cultivos vegetales y animales, el tratamiento con los AE provocó la pérdida de integridad de la pared celular y la permeabilidad de la membrana plasmática con importantes alteraciones morfológicas en las hifas (Soylu et al., 2006). El AE de lavanda que es rico en fenólicos ha demostrado la inducción de la apoptosis evidenciado por la inhibición de la filamentación, la rotura de la membrana citoplásmica y la tinción con yoduro de propidio en *candida albicans* (Zuzarte et al., 2012). En otro estudio, demostraron que el AE de *Curcuma longa* era citotóxica para *Aspergillus flavus* e inhibía la producción de aflatoxinas. El análisis con microscopía electrónica de barrido demostró un daño significativo en las membranas de hifas y conidióforos en *A. flavus* expuesto (Ferreira et al., 2013). El AE de flores de manzanilla se probó contra el crecimiento y la ultraestructura de *Aspergillus niger*, demostrándose una alteración evidente de las membranas citoplásmicas y los orgánulos intracelulares, el desprendimiento de la membrana plasmática de la pared celular y la desorganización completa de los compartimentos hifales (Tolouee et al., 2010). Por los resultados obtenidos de los experimentos antes mencionados se cree que las alteraciones morfológicas de los hongos se debe al aumento de permeabilidad de las membranas plasmáticas fúngicas provocado por una reducción en la cantidad de ergosterol de la membrana, el cual juega un papel importante en el mantenimiento de la integridad y la función de la célula fúngica (Iwaki et al., 2008).

Actividad antioxidante

Los AE exhiben excelentes propiedades antioxidantes, pero este potencial depende de la composición de cada aceite. Los compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios que contienen dobles enlaces conjugados presentes en los AE son los que muestran estas propiedades (Koh et al., 2002). Los AE obtenidos de nuez moscada, tomillo, canela, menta, albahaca, clavo, orégano y perejil se caracterizan por la mayoría de las propiedades antioxidantes vitales (Aruoma, 1998). La mayoría de los compuestos activos que muestran propiedades antioxidantes son el carvacrol y el tirol. La actividad de estos compuestos está relacionada con su estructura fenólica. Debido a las propiedades redox de los compuestos fenólicos, desempeñan un papel vital en la neutralización de los radicales libres y también en la descomposición de los peróxidos (Burt, 2004). La actividad antioxidante de los AE también se debe a otros compuestos presentes en aceites esenciales como alcoholes, cetonas, aldehídos, éteres y monoterpenos. Ejemplos comunes de estos compuestos son linalool, geranial / neral, 1,8-cineole, isomenthone, menthone, citronelal, α -terpinolene, α -terpinene y β -terpinene (Aruoma, 1998).

Efectos de los aceites esenciales en la fermentación ruminal.

Los AE parecen ser una alternativa natural al uso de aditivos antibióticos promotores de crecimientos en rumiantes, esto debido a su amplia documentación, lo cual ha despertado el interés de varios investigadores para examinar su potencial como manipulador de la fermentación ruminal, esto con el fin de mejorar la eficiencia alimenticia y la

utilización de nutrientes. El número limitado de compuestos de los AE y los evaluados hasta la fecha muestran cierta promesa al respecto. Sin embargo, el rango de AE y sus componentes disponibles es muy extenso y muchos de ellos no se han evaluado para este propósito, sin tomar en cuenta que la mayoría de los estudios realizados con esta finalidad se han llevado *in vitro* y se necesita investigaciones *in vivo* para determinar sus efectos, su modo de acción, las concentraciones y los compuestos que puedan modificar favorablemente la fermentación ruminal (Benchaa et al., 2008).

Se han realizado varios estudios para determinar los efectos de los AE y sus componentes en la fermentación microbiana del rumen. En estos estudios se utilizaron una amplia gama de AE, distintos componentes del mismo, dosis, y tipos de dietas y como era de esperarse los resultados han sido inconsistentes. La variabilidad de los resultados se puede deber a las diferencias en la estructura química, lo que influye en sus efectos sobre su actividad antimicrobiana.

Cinnamaldehyde

El cinamaldehído es un fenilpropanoide con actividad microbiana, y es el principal componente activo del aceite de canela que se encuentra en la corteza de los árboles de *Cinnamomum cassia*, representando hasta el 75% de su composición química y se conoce químicamente como fenol 3-fenil-2-propenal y su estructura es C₉H₈O (Yang et al., 2009b).

Los primeros efectos sobre el aceite de canela y cinamaldehído sobre el N de los microorganismos fueron de un cultivo continuo en donde se agregó 3000 mg/L de fluido ruminal obteniendo como resultado una reducción de 30 al 50% en las concentraciones de N de amoníaco, los efectos sobre las proporciones de AGV individuales fueron diferentes, y aunque el aceite de canela aumentó el acetato sin afectar las proporciones molares de propionato o butirato, el cinamaldehído aumentó el propionato sin afectar las proporciones de acetato y butirato (Busquet et al., 2006) lo que nos indica que una combinación con algún otro aceite nos puede permitir una manipulación de la fermentación microbiana del rumen.

Otro estudio de fermentación en un cultivo continuo de doble flujo a largo plazo evaluó los efectos en dosis bajas y altas de cinamaldehído, teniendo resultados similares al experimento anterior, en dosis bajas de 1.4 mg/L disminuyó las proporciones molares de acetato y aumentaron ligeramente las de butirato, pero esto no logró alcanzar significancia, a diferencia del uso de dosis altas de 31.2 y 312 mg/L este redujo las proporciones de acetato y aumento las proporciones molares de propionato y butirato (Busquet et al., 2005b). Estos perfiles de fermentación es similar al observado cuando se usan compuestos antimetanogénicos, como el amicloral o el monóxido de carbono para modificar la fermentación microbiana del rumen, lo que sugiere que su mecanismo de acción puede implicar la inhibición de la metanogénesis (Calsamiglia et al., 2007).

Los estudios anteriores fueron hechos con líquido ruminal de dietas de ganado lechero (altas en forrajes) lo que indica un pH menos ácido y como se demostró en un estudio de fermentación *in vitro* a distintos pH se observó que los aceites esenciales pueden cambiar su efecto según el tipo de dieta y el pH, en este estudio se utilizaron distintos aceites esenciales y sus metabolitos secundarios, entre ellos el aceite de canela y cinamaldehído en líquido ruminal de bovinos alimentados con dietas altas en grano 10:90. A pH 7,0, el aceite de canela y el cinamaldehído resultaron en una relación acetato-propionato más alta y una concentración de AGV's total más baja, lo que sugiere una eficiencia más baja de la utilización de nutrientes en el rumen. Por el contrario, a pH 5.5, los AGV totales aumentaron y la concentración de N amoniacal y la relación acetato: propionato disminuyó en respuesta a aceite de canela y cinamaldehído (Cardozo et al., 2005) esto indica que tienen un potencial de mejorar la utilización de nutrientes en el rumen a medida que el pH disminuyó de 7 a 5.5, lo que nos dice que en un sistema de producción de carne sus efectos pueden ser más relevantes.

En un estudio *in vivo* en novillas que fueron canuladas en duodeno se evaluó la digestión ruminal mediante la suplementación de diferentes dosis de cinamaldehído (400, 800 y 1600 mg/d) en un cuadrado latino 4 x 4 con periodos de 21 días. Se midieron el consumo de alimento, el pH del rumen y las características de fermentación, el sitio y el grado de digestión y la síntesis de N microbiano. Las ingestas (kg/d) de MS, MO, FDN, almidón y N se modificaron de forma cuadrática ($P = 0,04$) al aumentar la suplementación con cinamaldehído. La MO fermentada en rumen disminuyó al aumentar el Tx, mientras que la digestibilidad de MS, MO, FDN y N no se vio afectada a

igual que el flujo de N microbiano, el pH, ni las concentraciones de AGV's. Los resultados indican que la suplementación de una dieta altamente concentrada con una dosis baja del Tx produjo pequeños aumentos en la disponibilidad de nutrientes en el rumen debido al aumento de la ingesta de alimento y una mayor digestión ruminal de la MO. Sin embargo, la ingesta de alimento y la digestión ruminal de los alimentos se vieron afectadas negativamente cuando se utilizó una dosis alta (Yang et al., 2009a) en este estudio se observa la inconcistencias de un estudio *in vitro* a un *in vivo*, en donde los resultados no concuerdan por grandes variaciones de un espacio controlado y de uno que no se sabe las interacciones biológicas dentro de el.

Eugenol

El eugenol es un compuesto fenólico con actividad antimicrobiana de amplio espectro contra bacterias gram positivas y gram negativas, y es uno de los principales componentes activos en el aceite de clavo que se encuentra presente en las yemas florales del árbol *Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllus*, conteniendo alrededor de 850 a 950 g eugenol/kg y 50 a 150 g isoeugenol y metileugenol /kg (Davidson y Naidu, 2000) y también se encuentra en las hojas canela *Cinnamomum cassia* (Fraser et al., 2007). Se conoce químicamente como fenol 4-alil-2-metoxifenol y su estructura química es C₁₀H₁₂O₂ (Yang et al., 2010).

En un estudio de cultivo continuo al cual se le administró una dosis baja de aceite de clavo de 2.2 mg/L obtuvo como resultado una menor proporción molar de acetato y AGV's de cadena ramificada y una mayor producción molar de propionato (Busquet et al., 2005a).

Se incubó durante 24 horas en fluido ruminal con una dieta de 50:50 forraje: concentrado diferentes dosis de aceite de clavo y eugenol (3, 30, 300 y 3,000 mg/L de fluido de cultivo), obteniendo como resultado a dosis bajas no hubo diferencias con el control que no tenía aditivos, mientras que a dosis altas de 3000 mg/L se obtuvo una reducción del 30 al 50% en la concentración de N de amoníaco y mostrando un aumento lineal en la proporción molar de propionato y un efecto cuadrático en las proporciones molares de acetato y butirato (Busquet et al., 2006). Los efectos *in vitro* indican en el perfil de fermentación que utilizando dosis óptimas se mejora la eficiencia de energía y la utilización de proteína en el rumen.

En otro estudio se realizaron dos experimentos para determinar los efectos de eugenol en la fermentación microbiana del rumen, en el primer experimento se utilizó cultivo *in vitro* de 24 horas con una dieta de 60:40 concentrado: forraje se evaluaron 4 dosis de eugenol (5, 50, 500 y 5,000 mg / L) y un control negativo, en donde después de 24 horas se determinó el pH, se analizó N amoniacal y los AGV's, obteniendo como resultados que en las dosis más altas se disminuyó las concentraciones de AGV's y aumentó el pH final, en dosis de 50 y 500 mg/L tendió a reducir las concentraciones de N amoniacal y a 500 mg/L redujo la proporción de propionato y la concentración de AGV de cadena ramificada, sin afectar la concentración total de AGV. El segundo experimento, se utilizaron fermentadores de cultivo

continuo de doble flujo con un control positivo con 10 mg/L monensina y las mismas dosis que el experimento anterior de eugenol se determinó las concentraciones de péptidos, aminoácidos y N amoniacal, y las concentraciones de AGV totales e individuales. La monensina cambió el perfil de AGV como se esperaba, pero inhibió la digestión de nutrientes. El eugenol disminuyó la concentración de AGV total y cambiaron el perfil reduciendo el propionato y aumentando el acetato (Castillejos et al., 2006). El perfil que de fermentación obtenido en este experimento *in vitro* nos indica que el eugenol no es deseable para la producción de carne debido a que aumenta el acetato y disminuye le propionato.

Capsaicina

La capsaicina es un carotenoide que pertenece al grupo tetraterpenoide, y es el principal componente activo de los pimientos picantes *capsicum annum spp.*, encontrándose en un porcentaje de 10 al 15 %, se conoce químicamente como 8-metil-N-vanillyl-6-nonamida y su estructura química es C₁₈H₂₇NO₃ (Cichewicz y Thorpe, 1996).

Un estudio *in vitro* con fluido ruminal de ganado de carne alimentado con una dieta de paja con concentrado 10:90, informaron que a pH 7.0, incluso a dosis moderadas, se redujeron las concentraciones totales de AGV y N de amoniaco y se aumentó la relación acetato-propionato. Por el contrario, a pH 5.5, el aceite de pimiento redujo la concentración de N de amoníaco, aumentó la producción total de AGV y la proporción de propionato, y redujo la proporción de acetato y la relación acetato-propionato

(Cardozo et al., 2005) Por lo tanto, aunque parece haber poco beneficio del aceite de pimienta para el ganado lechero, sus efectos en las dietas con alto contenido de concentrado a pH bajo sugieren que se puede mejorar la utilización de nutrientes en el rumen (Calsamiglia et al., 2007).

En otro estudio probaron el efecto de la alimentación de aceite de pimienta sobre la fermentación ruminal en ganado de carne canulado ruminalmente y alimentado con una dieta de concentrado: forraje 90:10. Obteniendo como resultados que la concentración total de AGV's no se vio afectada, pero la proporción molar de acetato disminuyó. El aceite de pimienta redujo la concentración ruminal de péptidos grande y aumentó la de péptidos pequeños y AA, pero no tuvo ningún efecto sobre las concentraciones de N de amoníaco. Estos efectos sugieren que estimuló la proteólisis, que puede proporcionar más péptidos y AA, y mejorar la síntesis y el flujo de proteínas microbianas al intestino delgado (Cardozo et al., 2006).

En un estudio evaluaron tres dosis de extracto de capsaicina (125, 250 y 500 mg/d) sobre la ingesta, consumo de agua y la fermentación ruminal en novillas canuladas en rumen y alimentadas con una dieta de concentrado: forraje 90:10, los resultados que se obtuvieron fue una disminución en la proporción molar de acetato, un aumento de la ingesta de materia seca, mayor consumo de agua y un aumento en la proporción molar de AGV's (Rodríguez et al., 2012), este efecto del AE nos puede ayudar cuando ingesta puede verse comprometida como lo es a la recepción o llegada de animales, al estrés por calor y otros factores que disminuyan el consumo.

Ionóforos

Los compuestos antimicrobianos se han utilizado durante más de 60 años en nutrición animal como aditivos para alimentos (Visek, 1978), y se hicieron populares debido a la mejora en el rendimiento del crecimiento y la disminución de los costos de producción. Los ionóforos son antibióticos que forman un complejo lipofílico con cationes y facilitan su transporte a través de la membrana celular microbiana (Lemos et al., 2016). Su nombre es debido a esa propiedad anteriormente mencionada.

La mayoría de los antibióticos ionóforos son producidos por *Streptomyces spp.*, Aunque *Streptoverticillium*, *Nocardiopsis*, *Nocardia* y *Actinomadura spp.* También se sabe que los producen (Benno et al, 1988). Junto con los productos naturales de microorganismos, existen varios ionóforos modificados químicamente. Pertenecen a un vasto grupo de ionóforos, solo un subconjunto de los cuales se utilizan como promotores del crecimiento o en la prevención de infecciones en animales.

Este subconjunto se puede dividir en tres clases principales en función de su modo de transporte: ionóforos neutros, ionóforos carboxílicos y los cuasi-ionóforos formadores de canales. Los ionóforos neutros no tienen un efecto fuerte antibacteriano por lo cual no se usan como antibióticos, los ionóforos carboxílicos o antibiótico polieter se subdividen en monovalentes o divalentes, dependiendo de su transporte preferencial de cationes mono o divalentes (Westley, 1982).

En este grupo se encuentran la mayoría de los ionóforos incorporados a la alimentación animal. Los cuasi-ionoforos formadores de canales como su nombre lo indica forma canales en transmembranales que permite que los cationes monovalentes fluyan a favor del gradiente un ejemplo seria la gramicidina (Pressman, 1976).

Mecanismo de acción

La teoría quimiostática de Mitchell establece que las bacterias utilizan ATPasa para transportar protones a través de la membrana celular, lo que origina potenciales eléctricos y químicos, que forman la fuerza motriz de protones. Algunas bacterias dependientes del gradiente iónico a través de su membrana celular, generan energía (ATP) a partir de la fuerza motriz de protones (Russell, 1987).

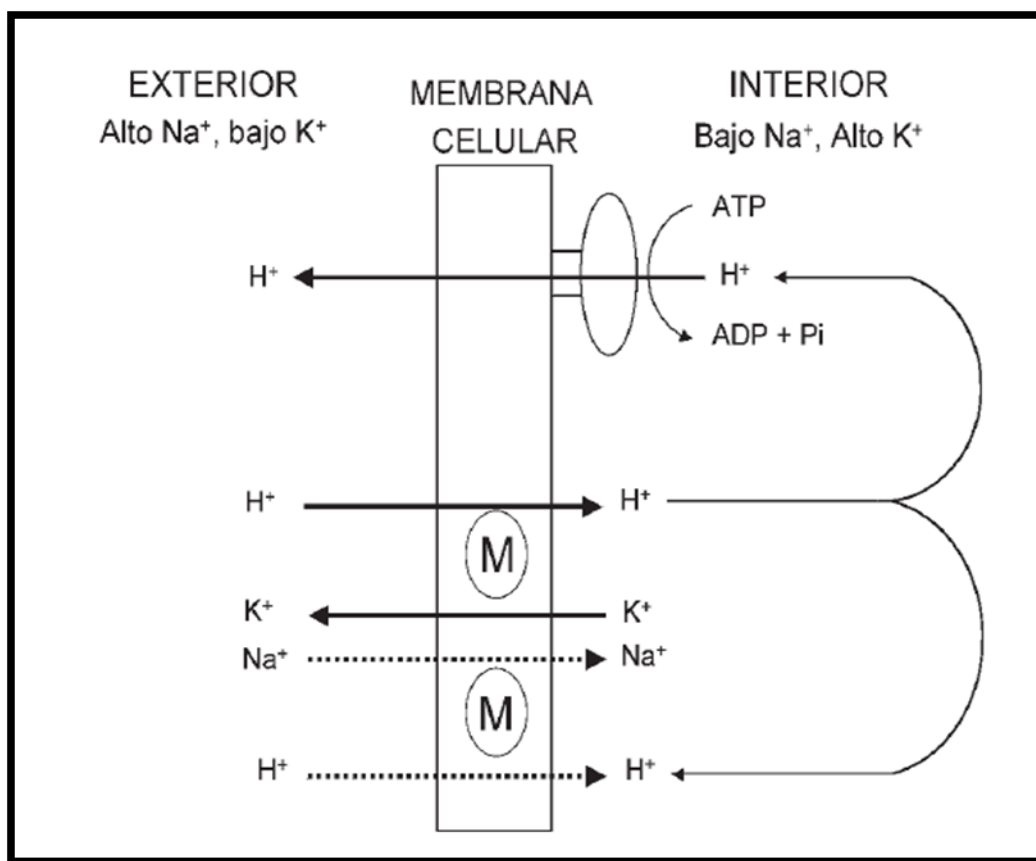
Los ionóforos son compuestos lipolíticos capaces de transportar y ligar iones y cationes como K, Na, Ca y Mg a través de la membrana celular de organismo procariotas y eucariotas. Los ionóforos carboxílicos que son los más utilizados en rumiantes (monensina y lasalocida) se unen junto con los iones que transportan a través de interacciones dipolo, enlaces de H y fuerzas de Van der Waal. La monensina se une preferentemente a cationes monovalentes, mientras que lasalocida se une a iones monovalentes y bivalentes (Elsasser, 1984).

Los ionóforos afectan a algunas bacterias ruminales, debido a que interrumpen el intercambio iónico y modifican los gradientes protónicos y catiónicos de la membrana celular. Como respuesta a esta modificación de gradientes, las bacterias inician un bombeo activo de protones al exterior (Figura 4) que les permite mantener las concentraciones iónicas y el equilibrio ácido-básico en su interior; sin embargo, estos procesos requieren suficiente energía metabólica extra (Henderson et al., 1969; Russell, 1987).

La monensina (M), además de facilitar el intercambio H^+ y Na^+ a través de las membranas celulares, también facilita el intercambio de K^+ y H^+ y el flujo de iones, lo cual ocasiona la salida considerable de K^+ , acumulación de H^+ y disminución del pH (Russell, 1987). Una vez que el pH intracelular es invertido, la monensina provoca la salida de H^+ y la entrada de Na^+ (flechas discontinuas, Figura 4). Como se mencionó anteriormente, estos mecanismos gastan energía (ATP) para expulsar el exceso intracelular de H^+ (flechas continuas, Figura 4), por lo que la energía disponible para el metabolismo y crecimiento bacteriano se reduce considerablemente (Russell, 1987). Por su parte, la lasalocida tiene alta afinidad por K^+ , por lo que la difusión del intercambio K^+ /protón parece ser su efecto principal en la célula (Russell y Strobel, 1989).

La monensina y lasalocida tienen efectos similares en el flujo de iones, pero su efectividad puede diferir. Algunos estudios demuestran que la monensina es más potente que la lasalocida, lo cual parece estar asociado a las características de cada ionóforo (Rodríguez y Muñoz, 2000).

Figura 4. Efecto de la monensina (M) en el flujo de iones en *S. bovis*



(Russell, 1987)

Monensina

La monensina es un antibiótico poliéter ionóforo carboxílico monovalente producido por *Streptomyces cinnamonensis* que anteriormente se denominaba ácido monensico. Transporta Na de manera más eficiente que K (Mendez et al., 1987; Haney y Hoehn, 1968).

Efecto de monensina sobre eficiencia digestiva

En un estudio se revisaron 58 medios de tratamiento de 16 estudios de literatura publicada sobre monensina para cuantificar el cambio proporcional de acetato, butirato y propionato, así como AGV totales

causado por la dosis de monensina en ganado de finalización, en donde la dosis media de monensina en la base de datos de la literatura fue de 30.9 ± 3.70 mg/kg de MS, los resultados que se obtuvieron indican que el perfil de AGV puede depender de la dosis con un aumento de las proporciones de propionato y disminuciones de acetato y butirato (Ellis et al., 2012).

En otro estudio se determinó si la inclusión de DDGS en dietas altas en grano se reducía el mérito de usar niveles altos de monensina al evaluar la ingesta, digestibilidad, pH ruminal y fermentación en 5 novillos de engorda, los cuales fueron canulados en rumen y duodeno, la inclusión fue de 20% y 40% de DDGS y los niveles de monensina de 28 y 48 mg/kg MS, en donde se observó que los novillos alimentados con la dosis alta de monensina redujo el CMS y la digestibilidad ruminal de MO, FDN y almidón disminuyó, pero la digestibilidad intestinal aumentó al aumentar los DDGS. La ingesta de N, los flujos de N totales, N no amoniacal y N en la dieta aumentaron así como la eficiencia de la síntesis microbiana ruminal al aumentar los DDGS y la dosis alta de monensina, el pH no se vio afectado, lo cual sugiere que la monensina alteró la disponibilidad de nutrientes y el sitio de digestión del alimento (Xu et al., 2013).

Montaño, et al. (2014) evaluaron la suplementación con monensina (34 mg/kg) y virginiamicina (26mg/kg) en una dieta alta en grano en 3 novillos de finalización canulados en rumen y duodeno, se observó que los dos tratamientos deprimieron la digestión ruminal de la MO, el N alimenticio y la síntesis de proteína bacteriana aumentando el pH asociado a una disminución de las concentraciones de AGV, por lo cual se puede decir que la suplementación con monensina y virginiamicina en dietas de finalización

pueden mejorar el aumento de peso diario, la eficiencia y la energía dietética, provocado por un cambio hacia una digestión intestinal de MO y una disminución de la degradación ruminal.

Yang et al., (2014) evaluaron las respuestas de pH ruminal y la fermentación, así como el sitio y el alcance de la digestión al sustituir el grano de cebada por el trigo, para determinar si una concentración elevada de monensina (28 y 48 mg/kg) podría disminuir los indicadores de acidosis ruminal en novillos de finalización, en este estudio se utilizaron 5 novillos canulados en rumen, obteniendo como resultado que el aumento de monensina en la dieta de trigo redujo el CMS, el pH ruminal medio fue menor y las variaciones de pH <5.8 y pH <5.5 mayor para el trigo que para la cebada y no fue afectado por los niveles de monensina, en los niveles altos de monensina la proporción molar de propionato fue mayor a comparación de butirato y la relación acetato a propionato que fue menor además de disminuir el flujo de MO, N total y proteína microbiana al intestino debido a la disminución de CMS, estos resultados indican que el trigo es similar a la cebada pero aumenta el riesgo de acidosis ruminal, aunque un nivel mayor de monensina tuvo un impacto limitado en los indicadores ruminales de acidosis.

Abrar et al., (2015) realizaron un estudio con la finalidad de obtener información sobre la influencia residual de la monensina en la dieta sobre la fermentación ruminal, la metanógenesis y las poblaciones bacterianas en líquido ruminal extraído de novillas canuladas dio como resultados que la monensina se elimina del fluido ruminal en 3 días, que la producción de ácidos grasos de cadena corta varió después de la eliminación de la

monensina y que la producción de metano aumentó 7 días después de que cesó la administración de monensina, mientras que la producción de hidrogeno disminuyó, lo que indica que la producción de ácidos grasos de cadena corta aumentó con la administración de monensina.

Benchaar (2016) llevó a cabo un estudio en 4 vacas canuladas para evaluar el efecto de la adición dietética de aceite de canela (50 mg/kg), cinamaldehído (50 mg/kg) y monensina (24 mg/kg) en la emisión de metano entérico en vacas lecheras con una dieta 60:40 forraje concentrado, obteniendo como resultados que no se encontraron efectos sobre CMS, retención de N, digestibilidad de nutrientes y que las emisiones entéricas de metano no se vieron afectadas. Esto puede deberse al tipo de dieta del animal y la relación forraje concentrado, por lo cual podría decirse que la monensina trabaja mejor en dietas altas en energía.

Lemos et al. (2016) realizaron un estudio para evaluar los efectos de la virginiamicina y la flavomicina solas y combinadas con monensina en diferentes dosis sobre la digestibilidad aparente de nutrientes del tracto total y la fermentación ruminal en 7 novillos fistulados en rumen con una dieta de finalización sin forraje en un cuadrado latino 7 X 7 para evaluar 7 tratamientos se obtuvo como resultado que la digestibilidad aparente del tracto total de MS, MO, PC y FDN fue similar entre los tratamientos. No hubo efecto del tratamiento en las respuestas de fermentación ruminal (pH ruminal, nitrógeno amoniacal ruminal, AGV y número de protozoos). En conclusión, no se encontró evidencia de beneficios para el ganado alimentado con una dieta de finalización sin fibra que respalde el uso de monensina combinada con virginiamicina o flavomicina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio.

El presente experimento se llevó a cabo en la unidad de laboratorio de digestión y metabolismo de rumiantes del Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias (IICV) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), localizada a un kilómetro del fraccionamiento Campestre en la ciudad de Mexicali, Baja California. La cual tiene un clima que se considera cálido seco con una temperatura promedio de 24° y una precipitación pluvial anual promedio de 77 mm (INEGI, 2017).

Unidad Experimental

Se utilizaron cuatro novillos Holstein (189 ± 13 Kg) clínicamente sanos, habilitados con cánulas tipo "T" en rumen y duodeno proximal, se elaboraron con el material y el procedimiento descrito por (González y Montaña, 2015b) en rumen y (González y Montaña, 2015) en duodeno. Los novillos fueron adaptados a las dietas experimentales 10 días previos al inicio del experimento e identificados con aretes con numeración progresiva del 1 al 4.

Dietas

La dieta basal (DB) fue formulada (BMS) en base a maíz hojueleado al vapor (Tabla 3). Se añadió 0.3% de óxido crómico como un marcador digestivo inerte para el cálculo del flujo a duodeno y de excreción fecal de materia seca (MS). El consumo (BMS) se ajustó al 2.2% del peso vivo, ofreciéndose en forma diaria dividido en dos porciones iguales a las 08:00 y 20:00 hrs.

Las raciones fueron elaboradas en la planta de alimentos del IICV-UABC. Las dietas se elaboraron en una sola ocasión y se almacenaron en cajas de madera con tapa de capacidad de 1m³; esto se realizó para disminuir la variación del contenido nutrimental y concentración final de cromo en las dietas experimentales. La adición de cromo fue a través del uso de una premezcla la cual fue elaborada en la planta de alimentos del Desert Research and Extention Center, campo experimental de la Universidad de California, Davis, EUA. Los ingredientes fueron agregados al mezclador en el siguiente orden: maíz, DDGS, premezcla, forrajes, grasa y melaza. El tiempo de mezclado fue de 15 minutos utilizando un mezclador horizontal (Modelo HD-20; HC Davis Sons Manufactory Co., Bonner Spring, KS) de capacidad de 2.5 m³.

Tabla 3. Ingredientes y composición nutrimental de las dietas experimentales

Concepto	Tratamientos			
	-MN	+MN	-MN	+MN
	-XT	-XT	+XT	+XT
Ingredientes, % (BMS)				
Maíz Hojueleado	69.38	69.37	69.37	69.35
DDGS	7.50	7.50	7.50	7.50
Heno de sudan	9.00	9.00	9.00	9.00
Heno de alfalfa	3.00	3.00	3.00	3.00
Grasa amarilla	2.50	2.50	2.50	2.50
Melaza	5.00	5.00	5.00	5.00
Óxido de magnesio	0.15	0.15	0.15	0.15
Caliza	1.45	1.45	1.45	1.45
Urea	1.21	1.21	1.21	1.21
Oxido de Cromo ¹	.30	.30	.30	.30
Premezcla mineral ²	.40	.40	.40	.40
Xtract-R 7065 ³	0	0	.0110	.0110
Rumensin 90 ⁴	0	.0165	0	.0165
Composición de nutrientes⁵, (BMS)				
Energía neta, Mcal/kg				
ENm Mcal/kg	2.20	2.20	2.20	2.20
ENg Mcal/kg	1.53	1.53	1.53	1.53
Proteína cruda, %	13.8	13.8	13.8	13.8
Extracto Etéreo, %	6.48	6.48	6.48	6.48
FND, %	16.9	16.9	16.9	16.9
Calcio, %	.70	.70	.70	.70
Fosforo, %	.32	.32	.32	.32
Potasio, %	.78	.78	.78	.78
Magnesio, %	.28	.28	.28	.28
Azufre, %	.17	.17	.17	.17

¹Óxido Crómico (.30%) fue agregado como marcador digestivo; ²Contenido de la premezcla mineral: CoSO₄, 0.068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 0.75%; MnSO₄, 1.07%; KI, .052%; and NaCl, 93.4%; ³ Una mezcla de cinnamaldehyde, eugenol y capsicum (Xtract® Ruminant 7065, Pancosma, Ginebra Suiza); ⁴ Contiene 19.8% de monensina (Rumensin-90, Elanco, Greenfield, IN 46140 USA); ⁵ Estimado utilizando los valores tabulados para cada ingrediente (NRC, 1996).

Asignación de tratamientos

Los novillos fueron asignados a corrales individuales de 3.9 m² con comedero individuales y bebedero compartido, la superficie del piso era de concreto el cual fue recubierto con tapetes de neopreno para su descanso, los corrales estaban localizados en una área cerrada.

Xtract-R 7065 (una combinación de cinamaldehído, eugenol y capsacina) y el ionóforo Rumensin-90 se incorporaron manualmente en forma adicional con las raciones asignadas por animal por servida (Tabla 4), utilizando para su pesado una báscula analítica digital.

Los tratamientos fueron los siguientes:

Tabla 4. Tratamientos experimentales

<i>Tratamientos</i>	<i>Rumensin 90</i>	<i>Xtract-R 7065</i>
TMT 1	0 g	0 g
TMT 2	0.70 g	0 g
TMT 3	0 g	0.50 g
TMT 4	0.70 g	0.50 g

Diseño experimental

Se analizaron los efectos de la inclusión de Xtract-R 7065 y rumensin-90 solos y combinados en la dieta sobre las características de digestión en el ganado bovino como un experimento balanceado en un diseño de cuadrado latino 4 X 4, con una disposición factorial 2x2 de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + E_{ijk}$$

En el cual:

Y_{ijk} : variable de respuesta

μ : Media general.

A_i : Efecto de dirección.

P_j : Efecto del Periodo.

T_k : Efecto del tratamiento.

E_{ijkl} : es el error residual.

Los efectos principales del tratamiento y la interacción fueron probados mediante contrastes ortogonales.

Tabla 5. Asignación de tratamientos y distribución de acuerdo al diseño experimental

	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4
PERIODO 1	TMT 1	TMT 2	TMT 3	TMT 4
PERIODO 2	TMT 2	TMT 3	TMT 4	TMT 1
PERIODO 3	TMT 3	TMT 4	TMT 1	TMT 2
PERIODO 4	TMT 4	TMT 1	TMT 2	TMT 3

Duración del experimento

El experimento consistió en 4 periodo experimentales de 21 días de duración por periodo (17 días de ajuste a la dieta con el tratamiento y 4 días de recolección de muestras).

Procedimiento de muestreo

Durante cada período de recolección de muestra, se tomaron muestras duodenales y fecales de todos los novillos, dos veces al día de la siguiente manera: día 1, 07:50 y 13:50; día 2, 09:00 y 15:00; día 3, 10:50 y 16:50; y día 4, 12:00 y 18:00. Las muestras individuales consistieron en aproximadamente 700 ml/d de líquido duodenal, 200 g (base húmeda) de material fecal y 100 ml de líquido ruminal (obtenido de cada novillo a través de la cánula ruminal). Las muestras duodenales se tomaron utilizando recipientes de plástico con capacidad de 1L y las heces se recolectaron directamente del piso con una espátula y se almacenaron en bolsas identificadas para cada animal. Al finalizar la recolección de muestras se lavaban las cánulas y el área adyacente con agua tibia.

Análisis de laboratorio

En cada periodo se recolectaron muestras de duodeno, heces y rumen. Las muestras duodenales (750 mL) y fecales (200 g) se tomaron de cada novillo dos veces al día durante los cuatro días de muestreo de cada periodo en los siguientes horarios: Día 1, 1030 y 1630 h; día 2, a las 0900 y las 1500 h; día 3, a las 0730 y las 1330 h y día 4, a las 0600 y las 1200h. Las muestras duodenales se tomaron utilizando recipientes de plástico de capacidad de 1L (Wide mouth square bottles, Evenflo®), al finalizar la recolección de muestras se lavaron las cánulas y el área adyacente con agua corriente a presión. Las heces se recolectaron directamente del piso mediante espátula y se almacenaron en bolsas identificadas para cada animal. Las muestras de cada novillo recolectadas en cada periodo de colección se identificaron y mezclaron con el propósito de formar muestras homogéneas compuestas las que se congelaron a -20° C (Kelvinator, KSGW200, 19.4 cf) para análisis posteriores. El último día de colección de muestra de cada periodo se tomaron muestras de contenido ruminal ($\pm$ 350 mL) mediante el uso de una bomba de vacío (Cole Parmer Instrument, Vernon Hill, IL.), donde se determinó el pH del rumen (Orion 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA.) y se congelaron 10 ml de contenido ruminal para la determinación de ácidos grasos volátiles. El último día, del segundo periodo experimental, se obtuvieron muestras de contenido ruminal de cada novillo para aislamiento de bacterias ruminales por centrifugación diferencial (Bergen et al., 1968). Las muestras de duodeno y heces fueron descongeladas, homogenizadas y secadas a 70°C durante 48 h en estufa de aire forzado (EPS, C3F-2, Orange, CA), posteriormente se molieron en

molino para café (Krups Gx4100), se depositaron en platillos de aluminio, y se sometieron a temperatura de 105°C hasta peso constante. Las muestras desecadas se colocaron en frascos de vidrio de 120 mL cerrados herméticamente (Qorpak Jars, Fisher Sci.) Las muestras generadas se sujetaron a todos o parte de los siguientes análisis: Materia seca (MS, estufa desecando a 105°C hasta peso constante), ceniza, N kjeldhal y N amoniacal de acuerdo con lo estipulado por la AOAC (2000), almidón (Zinn, 1990), purinas (Zinn y Owens, 1986), FDA (Goering y Van Soest, 1970), óxido crómico (Hill y Anderson, 1958), MO microbiana (MOM) y N (MN), dejando el abomaso se calcularon usando purinas como marcador microbiano (Zinn y Owens, 1986) y energía bruta (EB) (utilizando una bomba calorimétrica adiabática, Parr Instruments, Co.)

Cálculos y análisis de digestión

La cantidad de MS que fluyó a duodeno y la excreción fecal se calcularon a partir de la cantidad de Cr₂O₃ ingerido dividido entre la concentración (g/g MS) de Cr₂O₃ que apareció en duodeno y heces respectivamente. La cantidad de materia orgánica microbiana (MOM), así como el nitrógeno microbiano (NM) que fluyen al duodeno se calculó con base en los análisis de las bacterias aisladas en el fluido ruminal, así como en las muestras obtenidas de duodeno, usando purinas como marcadores (Zinn y Owens, 1986). La materia orgánica fermentada (MOF) en rumen se calculó mediante la resta a la materia orgánica consumida (MOC) menos la diferencia cuantitativa observada a nivel duodenal de la cantidad total de la

MO, menos la MOM que ingresó a duodeno [$MOF = MOC - (MO - MOM)$]. El N consumido que escapa de la digestión ruminal (proteína de escape) se consideró como el equivalente al total de N que ingresa al duodeno menos la suma de las cantidades de N amoniacal, N microbiano y N endogeno que fluyeron al duodeno.

La producción de metano se calcula con base en el balance de fermentación teórico para la distribución molar observada de AGV y OM fermentados en el rumen (Wolin, 1960).

El valor esperado de la energía digestible (ED) de las dietas fue estimado de la siguiente forma: Esperado, ED, Mcal/kg = [(Valor de ED observado para cada uno de los tratamientos) / (valor ED observado para la dieta)] / ED calculada, son estimados a partir del valor de ED de cada uno de los ingredientes que componen cada dieta experimental (NRC, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de los tratamientos sobre las variables de respuesta se muestran en la tabla 6. No se observó efecto de los tratamientos sobre la digestión ruminal de MO, FDN, ni almidón ($P > .10$). De la misma manera, el flujo a duodeno de MO, FDN, almidón, N, NH-N, ni N microbial fue afectado por los tratamientos ($P > .10$). La digestión total de MS, MO, FDN, N ni almidón tampoco fue afectada por los tratamientos ($P > .10$). Busquet et al. (2006) al trabajar con aceite de canela y cinamaldehído en un cultivo continuo en donde se agregaron 3000 mg/L de fluido ruminal obtuvieron como resultado una reducción de 30 al 50% en las concentraciones de N de amoníaco. Resultados similares fueron reportados por Geraci et al. (2012), al trabajar *in vitro* con una combinación de cinamaldehído, eugenol y capsacina. Estos autores observaron que aunque el pH ruminal se mantuvo estable, los niveles de NH-N disminuyeron de 20.05 a 10.78mg/dl en respuesta a la suplementación del extracto.

Tabla 6. Efectos del tratamiento sobre las características de la digestión ruminal, pos-ruminal y del tracto total

Concepto	-MN	+MN	-MN	+MN	SEM	Valor P		
	-XT	-XT	+XT	+XT		Mon	XT	Interacción
Consumo								
MS, g/d	4131	4131	4131	4131				
MO, g/d	3907	3907	3907	3907				
FDN, g/d	505	505	505	505				
N, g/d	88.1	88.1	88.1	88.1				
Almidón, g/d	2231	2231	2231	2231				
Flujo al Duodeno								
MO, g/d	1940	1750	1800	1870	62.9	0.39	0.97	0.09
FDN, g/d	301	282	289	341	15.1	0.31	0.16	0.06
Almidón, g/d	351	292	329	312	46.6	0.45	0.98	0.67
N, g/d	108	98.9	98.4	103	2.96	0.47	0.39	0.07
NH-N, g/d	4.91	4.88	4.80	4.64	0.17	0.61	0.35	0.69
Non NH-N, g/d	103	93.9	93.6	98.0	2.88	0.48	0.41	0.06
NM, g/d	58.5	66.6	65.8	54.4	4.79	0.74	0.63	0.09
N-Alimenticio, g/d	34.3	17.5	17.9	33.7	5.19	0.93	0.98	0.02
Digestión en Rumen								
MO, %	0.66	0.72	0.71	0.66	0.02	0.55	0.76	0.01
FDN, %	0.41	0.44	0.43	0.32	0.03	0.28	0.15	0.06
Almidón, %	0.84	0.87	0.85	0.86	0.02	0.46	0.98	0.68
N-Alimenticio, %	0.61	0.79	0.79	0.62	0.06	0.91	0.94	0.02
E. microbiana, g/kg	23.0	23.6	23.9	21.23	1.58	0.52	0.68	0.34
MOF								
E. Proteína, DNAN/NI	1.17	1.07	1.07	1.11	0.03	0.45	0.39	0.07
Digestion Total, %								
MS	77.9	80.4	79.4	80.3	0.71	0.05	0.38	0.31
MO	0.80	0.83	0.82	0.82	0.01	0.03	0.67	0.06
FDN	0.39	0.47	0.44	0.37	0.03	0.96	0.44	0.05
N	0.68	0.74	0.69	0.74	0.01	0.01	0.53	0.73
Almidón	0.99	0.99	0.99	0.99	0.001	0.90	0.14	0.22

Acorde con los resultados obtenidos en nuestro experimento, Yang et al. (2009a), observaron que la MO fermentada en rumen disminuyó en respuesta a incremento del nivel de suplementación de cinamaldehído (400, 800 y 1600 mg/d), mientras que la digestibilidad de MS, MO, FDN y N no se vio afectada.

Xu et al. (2013), al evaluar niveles de monensina de 28 y 48 mg/kg MS, observaron que los novillos alimentados con la dosis alta de monensina redujeron el CMS y la digestibilidad ruminal de MO, FDN y almidón. Al mismo tiempo, la ingesta de N, así como los flujos de N totales, N no amoniacal y N en la dieta aumentaron en respuesta a la dosis alta de monensina, lo cual sugiere que la monensina alteró la disponibilidad de nutrientes y el sitio de digestión del alimento. Resultados similares fueron reportados por Montaña et al. (2014).

CONCLUSIONES

La suplementación de Xtract-R 7065 (cinamaldehído, eugenol y capsaicina) y Rumensin 90 (Monensina) solos y/o en combinación en las dosis utilizadas en el presente experimento no afectaron digestión ruminal ni digestión en tracto total.

LITERATURA CITADA

- Abrar, A., T. Tsukahara, M. Kondo, T. Ban-Tokuda, W. Chao and H. Matsui. 2015. Effect of monensin withdrawal on rumen fermentation, methanogenesis and microbial populations in cattle. *Animal Science Journal* , 86: 849-854.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 155.
- Aruoma, O. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc.* 75:199-212.
- Benchaa, C., S. Calsamiglia, A. Chaves, G. Fraser, D. Colombatto and T. McAllister. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 209-228.
- Benchaa, C. 2016. Diet supplementation with cinnamon oil, cinnamaldehyde, or monensin does not reduce enteric methane production of dairy cows. *Animal* , 10: 418-425.
- Benno, Y., K. Endo, N. Shiragami and T. Mitsuoka. 1988. Susceptibility of fecal anaerobic bacteria from pigs and chickens to five polyether antibiotics for growth promotion. *The Japanese Journal of Veterinary Science.* 50:832-834.
- Bergen W. G., D. B. Purser and J. H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27:1497-1501.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology.* 94:223-253.
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2006. Plant Extracts Affect In Vitro Rumen Microbial Fermentation. *Journal Dairy Science.* 89: 761-771.
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2005a. Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Animal Feed Science technology.* 124: 597-613.
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, P.W. Cardozo and C. Kamel . 2005b. Effects of Cinnamaldehyde and Garlic Oil on Rumen Microbial

- Fermentation in a Dual Flow Continuous Culture. *J. Dairy Sci.* 88:2508-2516.
- Calsamiglia, S., M. Busquet, P. Cardozo, L. Castillejos and A. Ferret. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 90:2580-2595.
- Cardozo, P.W., 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. *J. Anim Sci.* 83:2572-2579.
- Cardozo, P., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde in beef heifers fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci.* 84:2801-2808.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia and A. Ferret. 2006. Effect of Essential Oil Active Compounds on Rumen Microbial Fermentation and Nutrient Flow in *In Vitro* Systems. *J Dairy Sci.* 89:2649-2658.
- Cichewicz, R., and P.A. Thorpe. 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. *J of Ethnopharmacology.* 52:61-70.
- Davidson, P., and A. Naidu. 2000. Phytophenols. En A. Naidu, Natural Food Antimicrobial Systems (pp. 265-293). Boca Raton, FL. USA: CRC Press.
- Diaz, A., L. Galindo, R. Bocourt, M. Laurencio and M. Perez. 2013. *Los microorganismos del rumen y su papel en la fisiología digestiva del rumiante*. La habana. Cuba: Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos.
- Dorman, H., and S. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J of App Microbiology.* 88: 308-316.
- Diario Oficial de la Unión Europea. 2003. 23 de September de 2003. ISSN 1725-2512
- Ellis, J. L., J. Dijkstra, A. Bannink, E. Kebreab, S.E. Hook, S. Archibeque and J. France. 2012. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. *Journal Animal Science*, 90: 2717-2726.

- Elsasser, T. 1984. Potential interactions of ionophore drugs with divalent cations and their function in the animal body. *Journal Animal Science*, 59: 845-853.
- Ferreira, D., S. Mossini, F.D. Ferreira, C. Arrotéia, C. Costa, and C. Nakamura. 2013. The inhibitory effects of Curcuma longa L. essential oil and curcumin on Aspergillus flavus link growth and morphology. *The Scientific World Journal*, Volume 2013, Article ID 343804, 6 pages.
- Fraser, G., A. Chaves, Y. Wang, T. McAllister, K. Beauchemin and C. Benchaar. 2007. Assessment of the Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems. *Journal Dairy Science*, 90: 2315-2328.
- Geraci, J. I., A. Garciarena, G. Gagliostro, K. Beauchemin and D. Colombatto. 2012. Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. *Animal Feed Science and Technology*, 176: 123-130.
- Gershenzon, J., and R. Croteau. 1991. Terpenoids. En G. A. Rosenthal, and M. R. Berenbaum, *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, vol, 1 (págs. 165-219). San Diego, CA: Academic Press.
- González, V. M., y M. F. Montaña. 2015. Instalación de cánulas tipo "T" en duodeno. XXV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos. Ensenada, B.C. Disponible en: http://ica.mx/ica.mx/icaweb_archivos/MEMORIA%20FINAL%20XXV%20RIPCLCC.pdf
- González, V. M., y M. F. Montaña. 2015b. Instalación de cánulas tipo "T", en rumen. XXV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos. Ensenada, B.C. Disponible en: http://ica.mx/ica.mx/icaweb_archivos/MEMORIA%20FINAL%20XXV%20RIPCLCC.pdf
- Goering, H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). Agric. Handbook 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Haney, M., and M. M. Hoehn. 1968. Monensin, a new biologically active compound. *Discovery and isolation*, 349-352.
- Hanif, M. A., S. Nisar, G. S. Khan, Z. Mushtaq and M. Zubair. 2019. Essential Oils. En A. I. Essential Oil Research Trends in Biosynthesis, *Sonia Malik* (págs. 3-17). pakistan: springer.

- Hart, K., D. Yáñez, S. Duval, N. McEwan and C. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Elsevier*, 147: 8-35.
- Henderson, P., J. McGivan and J. Chappell. 1969. The action of certain antibiotics on mitochondrial, erythrocyte and artificial phospholipid membranes. *Biochemical Journal*, 111: 521-535.
- Hill, F. N., and D. L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587-603.
- INEGI. 2017. Anuario estadístico y geográfico de Baja California 2017. *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*, 425.
- Iwaki, T., H. Iefuji, Y. Hiraga, A. Hosomi, T. Morita, Y. Giga-Hama, and K. Takegawa. 2008. Multiple functions of ergosterol in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Microbiology*, 154: 830–841.
- Koh, K., A. Pearce, G. Marshman, J. Finlay-Jones and P. Hart. 2002. Tea tree oil reduces histamine induced skin inflammation. *Br J Dermatol*, 47:1212–1217.
- Lemos, B., F. Castro, L. Santos, B. Mendonça, V. Couto and J. Fernandes. 2016. Monensin, virginiamycin, and flavomycin in a no-roughage finishing diet fed to zebu cattle. *Journal Animal Science*, 93: 4307-4314.
- Lier, E. V., and M. Regueiro. 2008. Digestión en retículo-rumen. Manual del departamento de producción animal y pasturas, curso de anatomía y fisiología animal. Monte video, Uruguay. pag 1-5.
- Mendez, C., C. Demuynck, and G. Jeminet. 1987. Etude “in vitro” de quelques antibiotiques ionophores et de certains de leurs dérivés. *Reprod. Nutr. Dev.*, 27: 921-928.
- Montaño, M., O. Manriquez, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera and R. Zinn. 2014. Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. *Journal of Applied Animal Research*, DOI: 10.1080/09712119.2014.978785.
- Nazzaro, F., F. Fratianni, A. d’Acierno, R. Coppola, F. Ayala, A. Gomez and V. Feo. 2019. Essential Oils and Microbial Communication. *intechopen*, DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85638>.
- Nazzaro, F., F. Fratianni, L. Martino, R. Coppola and V. Feo. 2013. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6: 1451-1474.

NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Ornaghi, M. G., R. Passetia, J. Torrecilha, C. Mottin, C. Vital, A. Guerrero, C. Sañudo, M. Campo and N. Prado. 2017. Essential oils in the diet of young bulls: Effect on animal performance, digestibility, temperament, feeding behaviour and carcass characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 243: 274-283.

Patra, A., and J. Saxena. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *ELSEVIER*, 1198-1222.

Pauli, A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *The International Journal of Aromatherapy*, 11: 126-133.

Pressman, B. 1976. Biological applications of ionophores. *Annu Rev Biochem*, 45: 501-530.

Relling, A., and G. Mattioli. 2003. *Fisiología digestiva y metabolica de los rumiantes*. Argentina: Universidad Nacional de La Plata.

Rodriguez, J. M., and S. Muñoz. 2000. Efectos biológicos y productivos de los ionóforos en rumiantes. *Interciencia*, vol. 25, 379-385.

Rodríguez, M., A. Ferret, J. Zwieten, L. Gonzalez, D. Bravo and S. Calsamiglia. 2012. Effects of dietary addition of capsicum extract on intake, water consumption, and rumen fermentation of fattening heifers fed a high-concentrate diet. *Journal Animal Science*, 90: 1879-1884.

Rotger, A. 2004. *Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensivo*. Barcelona, España: Universidad Autónoma de Barcelona.

Russell, J. 1987. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. *J Anim Sci*. 64: 1519-1525.

Russell, J., and H. Strobel. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *J Anim Sci*. 55:1-6.

Sangwan, N., A. Farooqi, F. Shabih and R. Sangwan. 2001. Regulation of essential oil production in plants. En N. Sangwan, A. Farooqi, F. Shabih, and R. Sangwan, *Plant Growth Regulation* (págs. 34: 3-21). Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

- Sartoratto, A., A. Machado, C. Delarmelina, G. Figueira, M. Duarte and V. Rehder. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 35:275-280.
- Sikkeman, J., J. Bont and B. Poolman. 1994. Interactions of Cyclic Hydrocarbons with Biological Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*. 269:8022-8028.
- Soylu, E., S. Soylu and S. Kurt. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*. 161:119-128.
- Swenson, M., and W. Reece. 1999. *Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes. Quinta edición*. España: Acribia.
- Tolouee, M., S. Alinezhad, R. Saberi, A. Eslamifar, S. Zad, K. Jaimand, J. Taeb, M. Rezaee, M. Kawachi, M. Shams and M. Razzaghi. 2010. Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology*. 139:127-133.
- Visek, W. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J Anim Sci*. 46:1447-1469.
- Wolin MJ. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J Dairy Sci*. 43:1452-1459
- Westley, J. 1982. Notation and classification. En J. Westley, *Polyether antibiotics: naturally occurring acid ionophores* (pages. 1-20). New York: Marcel Dekker.
- Xu, L., Y. Jin, M. He, C. Li, T. McAllister and W.Z Yang. 2013. Effects of increasing levels of corn dried distillers grains with solubles and monensin on intake, digestion, and ruminal fermentation in beef heifers fed high-barley grain diets. *J Anim Sci*. 91:5390-5398.
- Yang, W. Z., B. Ametaj, C. Benchaar and K. Beauchemin. 2009a. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. *J Anim Sci*. 88: 680-688.
- Yang, W. Z., B. Ametaj, C. Benchaar, M. He and K. Beauchemin. 2009b. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. *J Anim Sci*. 88:1082-1092.
- Yang, W. Z., B. Ametaj, C. Benchaar and K. Beauchemin. 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal

fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed Science and Technology*. 158:57-64.

Yang, W. Z., L. Xu, Y. Zhao, L. Chen and T. McAllister. 2014. Impact of hard vs. soft wheat and monensin level on rumen acidosis in feedlot heifers. *J Anim Sci*. 92:5088-5098.

Zinn, R. A. 1990. Influence of steaming time on site digestion of flaked corn in steers. *J. Anim. Sci*. 68:776-781.

Zinn, R. A. and F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci*. 66:157-166.

Zuzarte, M., L. Vale-Silva, M. Gonçalves, C. Cavaleiro, S. Vaz and J. Canhoto. 2012. Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 31:1359-1366.