

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**USO DE DERIVADOS ISOQUINÓLICOS ADICIONADOS A DIETAS DE
FINALIZACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO DE CORDEROS
FINALIZADOS BAJO ALTAS TEMPERATURAS AMBIENTALES**

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

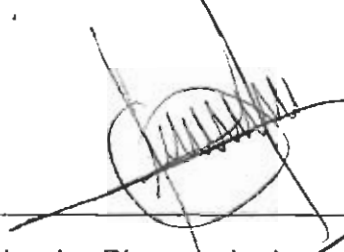
PRESENTA
M.V.Z. VÍCTOR HUGO NÚÑEZ BENÍTEZ

DIRECTOR DE TESIS
Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

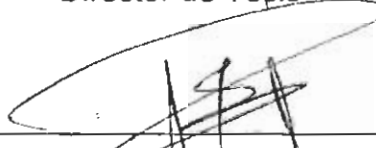
MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

AGOSTO DE 2016

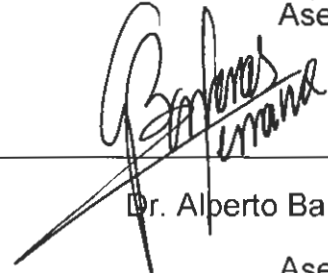
USO DE DERIVADOS ISOQUINÓLICOS ADICIONADOS A DIETAS DE FINALIZACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO DE CORDEROS FINALIZADOS BAJO ALTAS TEMPERATURAS AMBIENTALES. Tesis presentada por **Víctor Hugo Núñez Benítez**, como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el comité particular indicado:



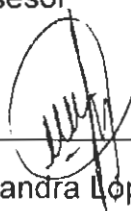
Dr. Alejandro Plascencia Jorquera
Director de Tesis



Dr. Alfredo Estrada Angulo
Asesor



Dr. Alberto Barreras Serrano
Asesor



Dra. Maria Alejandra Lopez Soto
Asesor



Dr. Juan Octavio Chirino Romero
Asesor

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT	v
JUSTIFICACIÓN.....	vii
HIPÓTESIS.....	viii
OBJETIVO	ix
Revisión de literatura	1
Situación actual de la ovinocultura	1
Situación actual de la producción ovina en México:	2
Balance térmico y estrés por calor	3
Efectos del estrés por calor en rumiantes	4
Efecto del estrés por calor sobre el consumo de agua:.....	5
Efecto del estrés por calor sobre el consumo de materia seca:	5
Estrategias para reducir los efectos del estrés por calor en rumiantes	8
Extractos vegetales	9
Metabolitos primarios de las plantas (MPP):	9
Metabolitos secundarios de las plantas (MSP):	9

Fenoles:	11
Terpenos:	11
Alcaloides:	11
Metabolitos secundarios con propiedades biológicas para uso como aditivo alimenticio.....	13
Taninos.....	13
Clasificación de los taninos	13
Taninos hidrolizables:.....	13
Taninos condensados:	14
Uso de taninos en la alimentación animal	14
Saponinas.....	19
Saponinas esteroideas:	20
Uso de saponinas en la alimentación animal.....	20
Alcaloides isoquinólicos.....	25
Uso de los alcaloides isoquinólicos en la alimentación animal	27
CONCLUSIONES	35
LITERATURA CITADA	36
Experimento 1.....	47
ABSTRACT	48
INTRODUCTION	49

MATERIALS AND METHODS.....	49
Weather measurement and THI estimation.....	50
Animals, diet and experimental design.....	50
Laboratory analyses and calculations	51
Carcass and visceral mass data	52
Statistical analyses.....	53
RESULTS AND DISCUSSION	53
CONCLUSION.....	56
REFERENCES	57

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1 Efecto del estrés por calor (HS) y alimentación en par sobre la producción y la digestibilidad aparente de nutrientes de la dieta en becerros Holstein en crecimiento.....	7
2 Clasificación de los principales compuestos fenólicos de origen vegetal, de acuerdo con su estructura química básica.....	12
3 Tipos de terpenos.....	12
4 Características del rumen de bovinos de carne en crecimiento alimentados con una dieta a base de forraje suplementada con extracto de tanino de quebracho.....	17
5 Efectos de la corteza de pino (PB) sobre la fermentación ruminal y N-Ureico en plasma en cabritos mestizos Kiko.....	18
6 Efectos de tratamientos con saponina sobre el pH ruminal, poblaciones de protozoos y concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV).....	24
7 Influencia del nivel de suplementación de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina (QBA+PA) sobre las características de digestión ruminal y de tracto total en novillos Holstein canulados.....	32
8 Influencia del nivel de suplementación de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina (QBA + PA) sobre pH ruminal, NH ₃ -N, concentración de AGV y estimación de producción de metano ¹	34

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1 Balance térmico en el ganado bovino.....	4
2 Efectos del estrés por calor (HS) y alimentación en par (PF) sobre el las concentraciones de glucosa en plasma en terneros Holstein en crecimiento.....	10
3 Síntesis de metabolitos secundarios en las plantas.....	26

RESUMEN

20 Ovejas Pelibuey × Katahdin (35 ± 2.3 kg) se utilizaron para determinar los efectos del consumo de un extracto de planta estandarizado que contiene una mezcla de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina (QBA+PA) sobre el comportamiento productivo, energética de la dieta, masa visceral y salud del epitelio ruminal en ovejas alimentadas con una dieta de alta energía a base de maíz y sometidas a estrés térmico. La dieta basal [13% de proteína cruda y 2.09 Mcal de energía neta (EN) de mantenimiento/kg de materia seca (MS)] contuvo 49.7% de almidón y 15.3% de fibra detergente neutro. La fuente de QBA+PA fue SANGROVIT® RS (SANG) el cual contiene 3 g de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina por kg de producto. Los tratamientos fueron 0 o 0.5 g de SANG/oveja por día. Las ovejas se agruparon por peso y se asignaron en 10 corrales (5 corrales/tratamiento) con dos ovejas por corral. El periodo experimental duró 70 días. El promedio de índice de temperatura y humedad (ITH) durante el experimento fue 81.7 ± 1.0 (estrés por calor severo). No hubo efecto de los tratamientos sobre el consumo de agua. El consumo de materia seca no fue afectado ($p=0.70$) por los tratamientos, sin embargo el grupo alimentado con SANG tuvo una ganancia numéricamente superior (11.2%) en comparación con el grupo control, SANG mejoró la eficiencia de ganancia (8.3%, $p=0.04$), la energía neta de la dieta (5.2%, $p<0.01$) y la energía neta observada sobre esperada (5.9%, $p<0.01$). La suplementación con SANG no tuvo efecto ($p \geq 0.12$) sobre las características de la canal, composición química de la paleta, y peso (g/kg PV) de los órganos del complejo estomacal, intestino y corazón/pulmón. La suplementación con SANG disminuyó el peso del hígado (10.3%, $p=0.02$) e incrementó la grasa visceral (16.9%, $p=0.02$). El epitelio ruminal en las ovejas alimentadas con SANG obtuvo los puntajes más bajos para la degradación hidrópica celular (1.30 vs 2.34, $p=0.02$), paraqueratosis (1.30 vs 1.82, $p=0.03$) e infiltración de neutrófilos (2.08 vs 2.86, $p=0.05$). Se concluye que la suplementación con SANG ayuda a

mitigar los efectos negativos de las altas temperaturas sobre el crecimiento de las ovejas de engorda alimentadas con dietas de alta energía a base de maíz. La mejora en la eficiencia energética puede ser posible, en parte, por los efectos anti-inflamatorios de la suplementación con SANG y una mejor absorción de nutrientes.

Palabras clave: alcaloides isoquinólicos, estrés por calor, dietas de alta energía, eficiencia alimenticia, epitelio ruminal.

ABSTRACT

Twenty Pelibuey × Katahdin ewes (35 ± 2.3 kg) were used in order to determine the effects of the consumption of standardized plant extract containing a mixture of quaternary benzophenanthridine alkaloids and protopine alkaloids (QBA+PA) on growth performance, dietary energetics, visceral mass, and ruminal epithelial health in heat-stressed ewes fed with a high-energy corn-based diet. The basal diet [13.9% crude protein and 2.09 Mcal of net energy (NE) of maintenance/kg of dry matter (DM)] contained 49.7% starch and 15.3% neutral detergent fiber. Source of QBA+PA was SANGROVIT® RS (SANG) which contain 3 g of quaternary benzophenanthridine and protopine alkaloids per kg of product. Treatments consisted of a daily consumption of 0 or 0.5 g SANG/ewe. Ewes were grouped by weight and assigned to 10 pens (5 pens/treatment), with two ewes per pen. The experimental period lasted 70 days. The mean Temperature Humidity Index (THI) during the course of this experiment was 81.7 ± 1.0 (severe heat stress). There were no treatment effects on water intake. Dry matter intake was not affected ($p=0.70$) by treatments, but as a consequence of group fed SANG had a numerically (11.2%) higher gain in comparison to the control group, SANG improved gain efficiency (8.3%, $p=0.04$), dietary net energy (5.2%, $p<0.01$) and the observed-to-expected net energy (5.9%, $p<0.01$). Supplemental SANG did not affect ($p\geq 0.12$) carcass characteristics, chemical composition of shoulder, and organ weights (g/kg EBW) of stomach complex, intestines, and heart/lung. Supplemental SANG decreased liver weight (10.3%, $p=0.02$) and increased visceral fat (16.9%, $p=0.02$). Rumen epithelium of ewes fed SANG had lower scores for cellular dropsical degeneration (1.30 vs. 2.34, $p=0.02$), parakeratosis (1.30 vs 1.82, $p=0.03$) and neutrophil infiltration (2.08 vs. 2.86, $p=0.05$) than controls. It is concluded that SANG supplementation helped ameliorate the negative effects of severe heat on growth performance of feedlot ewes fed high-energy corn-based diets. Improvement in energetic efficiency may have been mediated, in part, by

anti-inflammatory effects of supplemental SANG and corresponding enhancement of nutrient uptake.

Key words: isoquinoline alkaloids, heat stress, high-energy diets, feed efficiency, ruminal epithelial.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad los sistemas de producción intensivos de ovinos se localizan en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales las cuales se caracterizan por presentar temperaturas extremas la mayor parte del año (ITH > 77), por lo cual el uso de aditivos alimenticios es una práctica común para lograr una producción animal eficiente. La regulación en el uso de antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación animal ha estimulado la búsqueda de alternativas catalogadas como “seguras” para sustituirlos (Martínez, 2013). Los metabolitos secundarios de las plantas se plantean como una de ellas, ya que algunos de ellos pueden proporcionar los efectos que los antibióticos promotores del crecimiento generan (Cancho et al., 2000). Se sabe que algunos alcaloides isoquinólicos (Cuaternarios de benzofenantridina y protopina) tienen acción antimicrobiana específica (Colombo y Bosisio., 1996; Newton et al., 2002), anti-inflamatoria (Tanaka et al., 1993), inmunomoduladores (Chatuverdy et al., 1997) y efectos estimulante del apetito (Mellor, 2001). En teoría, estos efectos son ventajosos para los rumiantes alimentados con dietas de alta energía bajo condiciones de estrés térmico. Sin embargo, existe poca información disponible sobre los efectos de la suplementación con alcaloides isoquinólicos en ovinos alimentados con dietas de alta energía bajo condiciones de calor severas.

HIPÓTESIS

Los alcaloides isoquinólicos (Cuaternario de benzofenantridina y protopina) incluidos en dietas de finalización a corderos bajo condiciones de estrés por calor tiene efecto sobre el crecimiento y energética de la dieta.

OBJETIVO

Evaluar la influencia de la suplementación con alcaloides isoquinólicos (Cuaternario de benzofenantridina y protopina) en ovinos alimentados con dietas de finalización en condiciones de estrés calórico.

Evaluar la adición de alcaloides isoquinólicos a la dieta de ovinos sometidos a estrés térmico sobre el consumo de agua y MS, tasa de ganancia, eficiencia alimenticia, EN observada de la dieta, los cocientes de EN observada sobre esperada y consumo de MS observado sobre esperado.

Revisión de literatura

Situación actual de la ovinocultura

La producción ovina a finales de la década de los noventa constituía la segunda producción animal en importancia a nivel mundial, la producción y el precio de la lana en esa década disminuyó alrededor del 30%, esta situación provocó una reducción en el inventario ovino pasando de 1,204 a 1,070 millones de cabezas (1990-1999), en consecuencia los sistemas tradicionales (producción de lana) presentaron una reconversión con mayor énfasis en la producción de carne (Rubianes y Ungerfeld, 2002), sin embargo, los sistemas de producción ovina varían considerablemente en todo el mundo y reflejan las diferentes condiciones ambientales locales que determinan en gran medida, las razas, el nivel de intensificación, las prácticas de gestión y los sistemas de alimentación utilizados (Sepúlveda et al., 2011). Debido a este cambio en los sistemas de producción y a la demanda creciente de proteína de origen animal la población de ovinos incremento, para el año 2012 se estimaban 2,165 millones de cabezas de ovino con una producción anual de carne de 13.9 millones de toneladas, actualmente la carne de ovino ocupa el cuarto lugar en importancia dentro del consumo de proteína de origen animal, representando 4.6% del consumo mundial (FAO, 2014). Los países con mayor producción de carne de ovino son: China Continental, Australia, Nueva Zelanda, India y Reino Unido, en los últimos años Australia y Nueva Zelanda se han mantenido como los principales exportadores, estos dos países exportan alrededor del 90% del volumen a nivel mundial, mientras que los principales importadores son Francia, Estados Unidos, Reino Unido, Alemania y Bélgica, actualmente la demanda del mercado Chino y del Cercano Oriente influyen en el tipo de producto requerido, pasando de una demanda tradicional de cortes de mayor valor que caracteriza a los mercados de la Unión Europea y Estados Unidos, a canales completas y vísceras (Echávarri, 2013). El consumo per cápita de la carne de borrego es alrededor de 2 kg por año, sin embargo, el consumo varía entre países e

incluso regiones de un mismo país, en Australia el consumo per cápita es de 17 kg, mientras que en América del Norte apenas alcanza los 700 g por persona por año (Montossi et al., 2013).

Situación actual de la producción ovina en México: Tradicionalmente la producción ovina ha estado en manos de los productores más marginados, estos productores en su mayoría dependen de los forrajes y plantas nativas para alimentar su rebaño, cuya calidad y cantidad varían a lo largo del año, generalmente no cuentan con asistencia técnica y emplea técnicas tradicionales de producción; sin embargo, cada vez es más frecuente el flujo de capital en este sector dando origen a sistemas más tecnificados y llevando los corderos a etapas de finalización (Cuéllar-Ordaz, 2006). El inventario ovino nacional incrementó 19% entre 2005 y 2013, para el año 2013 se estimaban 8, 497,347 cabezas de ovino, los estados con mayor inventario son: México (1, 385,487), Hidalgo (1, 162,358), Veracruz (665,845), Oaxaca (518,421) y Puebla (499,619) (SIAP, 2014). Partida et al. (2013), mencionan que de las razas explotadas en México las de pelo son las que predominan, siendo la Katahdin y sus cruza las más comunes. Para el año 2013 la producción de carne fue de 57, 980 toneladas con un valor de 3,020 millones de pesos, 32% más que en 2004, a pesar del incremento en la producción y en el precio de la carne México aún no satisface las necesidades de su mercado, para el año 2014 se importaron 11 mil toneladas con un valor de 52 millones de dólares (FND, 2015). En México los sistemas de producción de ovinos que predominan son: estabulado, semiestabulado y pastoreo, los cuales se diferencian por su capacidad, recursos y uso de tecnologías (Pérez-Hernández et al., 2011), en los sistemas de producción intensivos la mayoría de los corderos se finalizan con dietas altas en grano, en regiones con climas semiáridos, tropicales y subtropicales, estas regiones presentan climas extremos (índice de temperatura y humedad >77) la mayor parte del año, las cuales se consideran estresantes para los animales (Partida et al., 2013). El estrés por calor es uno de los problemas más costosos y uno de los principales obstáculos para lograr una producción animal eficiente, los mecanismos de cómo el estrés térmico pone en peligro el rendimiento y la

salud animal es fundamental en el desarrollo de estrategias para mitigar los efectos sobre la producción y la salud animal (Baumgard y Rhoads, 2013).

Balance térmico y estrés por calor

El efecto de los factores climáticos sobre la fisiología, comportamiento y salud animal ha sido reconocida desde hace mucho tiempo, sin embargo; los rumiantes tienen la habilidad de controlar su temperatura corporal dentro de un ajustado margen a través de diferentes procesos fisiológicos, para mantenerse dentro de esta condición necesitan ganar o perder calor, este proceso se denomina balance térmico (Figura 1), donde la producción de calor del organismo compensa las pérdidas al ambiente sin necesidad de incrementar o reducir la tasa de calor corporal producido, no obstante, cuando los mecanismos para disipar calor no son suficientes el animal sufre de estrés calórico (Arias et al., 2008). El estrés por calor se puede definir como el total de las fuerzas externas a un animal homotermo que cambia la temperatura corporal central en estado de reposo, generando cambios fisiológicos, metabólicos, celulares y moleculares (Paula-Lopes et al., 2013). En condiciones extremas los rumiantes no pueden mantener el balance térmico y deben incrementar la pérdida de calor con el fin de mantener la homotermia, por lo cual el comportamiento productivo y la salud animal son afectados negativamente, dentro de los factores climáticos que afectan el balance térmico la temperatura ambiental y la humedad relativa son los que tienen mayor impacto (Roca-Cadeño, 2011). Una forma de estimar la severidad del estrés térmico es utilizar el índice de temperatura y humedad (ITH), el cual dependiendo de sus valores indica el grado de estrés al que están sometidos los rumiantes: $ITH < 72$ = ausencia de estrés por calor, $72 \leq ITH < 74$ = estrés por calor moderado, $74 \leq ITH < 78$ = estrés por calor severo y $ITH \geq 78$ = estrés por calor grave (Marai y Haebe, 2010). Para que los mecanismos de defensa a altas temperaturas se activen deben transcurrir de 3 a 4 días y en general los

animales se adaptan a estas condiciones alrededor de los 10 días (Martínez-Marin, 2006).

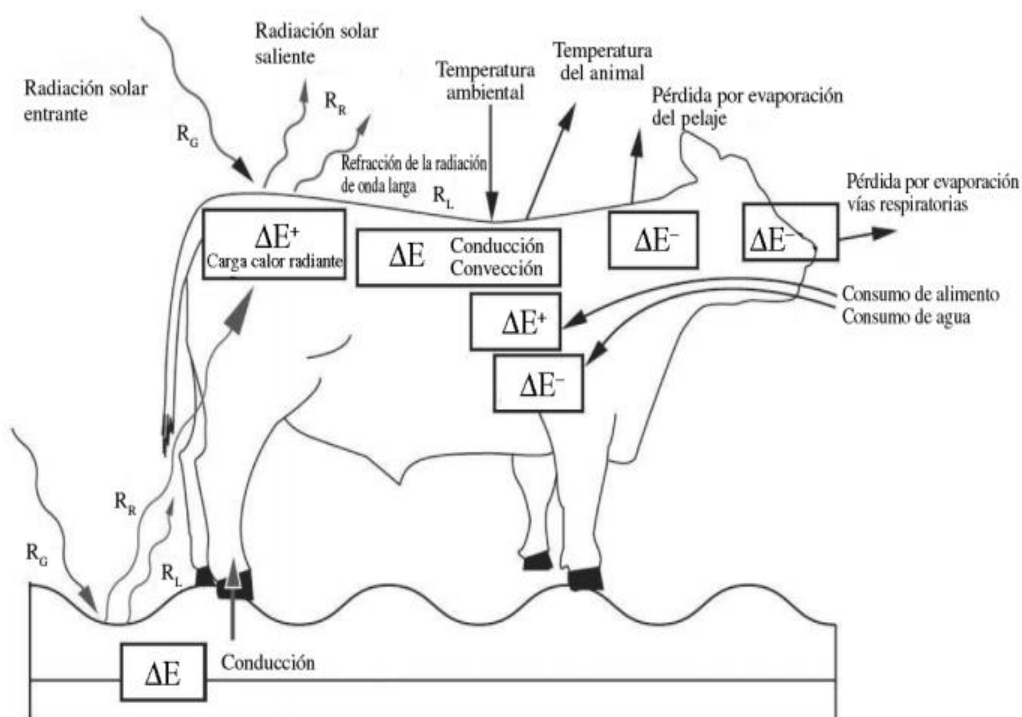


Figura 1. Balance térmico en el ganado bovino.

(Arias et al., 2008)

Efectos del estrés por calor en rumiantes

La exposición a temperaturas elevadas provoca una serie de cambios en las funciones biológicas de los animales que incluyen una disminución en el consumo, eficiencia y utilización del alimento, alteraciones en el metabolismo de agua, proteína, energía y secreciones hormonales (Marai et al., 2007), menor rendimiento en canal, mayor incidencia en enfermedades metabólicas (acidosis ruminal) (Lambert 2009; Nardone et al., 2010), disminución en la actividad física, por otra parte, la frecuencia respiratoria, el flujo de sangre periférica y transpiración se incrementan (West, 2003). Bernabucci et al. (2010) mencionan

que debido a la redistribución del flujo sanguíneo a la periferia y a la reducción en el suministro de sangre a tracto gastrointestinal, los productos finales de la fermentación (ácidos grasos volátiles (AGV)) se absorben de forma menos eficiente y por lo tanto el pH ruminal tiende a disminuir. La acumulación de ácido aumenta la presión osmótica y puede causar daño e inflamación al epitelio del rumen y permitir la entrada sistémica de endotoxinas, bacterias o aminas que pueden causar inflamación, infección e incluso muerte de los animales (Owens et al., 1998; Vitali et al., 2009).

Efecto del estrés por calor sobre el consumo de agua: el agua es uno de los nutrientes más críticos para los animales, el consumo y el tipo de alimento son los principales reguladores en su ingesta, sin embargo sus necesidades se intensifican en condiciones climáticas calientes (Marai y Haezeb, 2010). En condiciones de estrés por calor la deshidratación y el aumento en la concentración de solutos en los fluidos corporales reduce la capacidad de evaporación y permite que la temperatura corporal se incremente, en respuesta al incremento en la temperatura los rumiantes aumentan el consumo de agua (Silanikove, 2000), ya que genera un efecto directo sobre el enfriamiento del aparato digestivo (rumen-retículo) además el agua es el principal vehículo para disipar calor (Collier et al., 1981).

Efecto del estrés por calor sobre el consumo de materia seca: una reducción en el consumo de materia seca (CMS) es esperado e incluso es considerado como un mecanismo de protección contra la hipertermia, en estas condiciones disminuye la digestión y fermentación ruminal (principal generador de calor metabólico), lo cual es beneficioso para el animal ya que es menos el calor generado (Lu, 1989). Sin embargo, el estrés térmico genera un incremento en la demanda de energía de mantenimiento, ya que las reacciones químicas para mantener en equilibrio el metabolismo animal son mayores (Baumgard y Rhoads, 2012), los efectos se hacen más notables cuando los animales son de alta producción, ya que es mayor la producción de calor metabólico, en vacas lactantes el CMS puede reducir de 20 a 40% (Silanikove, 1992).

Hosseini-Yazdi et al. (2016), evaluaron los efectos del estrés por calor sobre el metabolismo, digestión y características del epitelio ruminal, para este experimento utilizaron 16 becerros Holstein (aproximadamente 7.6 meses de edad y 178 ± 7.55 kg de pesos vivo) alojados en cámaras para controlar la temperatura ambiental durante dos periodos, el primer periodo consto de una duración de 8 días bajo condiciones termo neutrales (TN, 20.7 ± 3.0 °C y un ITH de 65.2 ± 3.1 .) bajo estas condiciones los terneros no presentaron cambios sobre el CMS, digestión, consumo de agua, sin embargo, en el periodo 2 (9 días) los becerros se dividieron en dos grupos, uno bajo condiciones de estrés térmico (HS, ITH de 77 a 88) y el otro en condiciones termo neutrales (PFTN), en el grupo HS se observó una disminución del 20% ($P < 0.01$) en el CMS, en el consumo de agua se observó un incremento (58%, $P < 0.01$), en la digestibilidad de MS, materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN) y proteína cruda (PC) no se observaron diferencias al igual que en el periodo 1 (Cuadro 1), en las papilas ruminales se observó una tendencia a disminuir su ancho y longitud ($P < 0.07$). Las concentraciones (mg/dL) de glucosa en plasma son menores ($P < 0.01$) en el grupo alimentado bajo estrés térmico.

Mahjoubi et al. (2014), realizaron un estudio para evaluar los efectos del estrés térmico sobre el comportamiento y metabolismo en corderos, el experimento fue dividido en 2 periodos, en el primer periodo todos los corderos estuvieron bajo condiciones termo neutrales (TN, 25.6 ± 2.6 °C y un ITH de 72 ± 2.6), los resultados en el primer periodo fueron similares para todos los corderos sin mostrar diferencias en las variables medidas, en el periodo 2 los corderos se dividieron en dos grupos, el primer grupo estuvo sometido a condiciones de estrés por calor (HS, 29 a 43°C y un ITH ≥ 80 durante 24 h) y el segundo grupo en condiciones termo neutrales (PFTN), en este periodo los corderos que estuvieron bajo el tratamiento HS incrementaron el consumo de agua ($P < 0.01$), en cuanto a CMS no se presentaron diferencias, sin embargo, la eficiencia fue menor en el grupo HS ($P < 0.01$), esto indica que el animal requiere mayor cantidad de energía para mantenerse en balance térmico, por lo cual la producción animal se ve afectada negativamente.

Cuadro 1. Efecto del estrés por calor (HS) y alimentación en par sobre la producción y la digestibilidad aparente de nutrientes de la dieta en becerros Holstein en crecimiento

Concepto	Periodo 1		Periodo 2		SEM	P-Valores		
	Grupo 1 (TN ¹)	Grupo2 (TN ²)	Grupo 1 (PFTN ²)	Grupo (HS)		Periodo	Grupo	Periodo* Grupo
CMS, kg/d	5.42	5.55	4.57	4.49	0.34	0.01	0.95	0.75
Consumo de Agua, kg/d	21.45 ^b	22.73 ^b	19.85 ^b	35.89 ^a	1.85	<0.01	<0.01	<0.01
Consumo de agua:CMS	3.92 ^b	4.20 ^b	4.56 ^b	8.37 ^a	0.35	<0.01	<0.01	<0.01
GDP, kg/g	1.70	1.70	-0.13	0.40	0.17	<0.01	0.13	0.14
GDP:CMS	0.31 ^x	0.31 ^x	-0.03 ^z	0.09 ^z	0.03	<0.01	0.07	0.06
Digestibilidad aparente, %								
MS	69.7	73.6	70.3	70.2	1.99	0.49	0.34	0.32
MO	72.7	76.7	74.2	73.2	1.93	0.61	0.44	0.21
FDN	43.9	51.8	44.1	45.2	3.95	0.43	0.27	0.40
PC	70.5	74.3	71.2	68.8	2.31	0.30	0.76	0.19

^{a,b} Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices indican interacciones periodo x grupo (P <0.05).

^{x-z} Los valores dentro de una fila con diferentes superíndices indican interacciones entre periodo x grupo (P<0.01).

¹ TN= Termo neutral.

² PFTN= alimentación en par, termo neutral.

³ Interacción periodo x grupo

Hossein-Yazdi et al. (2016)

Chauhan et al. (2014), realizaron una investigación para evaluar el efecto de dosis de antioxidantes (Vit E y Se) superiores a las recomendadas sobre los efectos del estrés por calor en ovinos, utilizaron 24 ovejas (Merino × Dorset, 5-6 meses de edad de un peso vivo de 32 a 35 kg) en dos periodos, el periodo 1 bajo condiciones termo neutrales (TN, 18 a 21°C y 40 a 50% de humedad relativa) y periodo 2 bajo condiciones de estrés por calor (HS, 28 a 40 °C y 26 a 30% de humedad relativa), en ambos periodos los tratamientos fueron los siguientes, una dieta basal, a la cual se agregó Vit E como acetato de α -tocoferol a 10 mg / kg de MS y Se (levaduras selenizadas) a 0.24 mg / kg de MS (CTRL) o Vit E como acetato de α -tocoferol a 100 mg / kg de MS y Se (levaduras selenizadas) a 1.2 mg / kg de MS (Se + Vit E), no se observaron diferencias en cuanto a consumo de agua en los periodos experimentales, sin embargo, cuando las ovejas fueron alimentadas con el tratamiento CTRL bajo condiciones HS hubo una reducción del 13% en el CMS ($P < 0.01$) con respecto a TN, por otro lado cuando recibieron la dieta Se + Vit E bajo condiciones HS, el CMS fue 12% superior con respecto al CTRL, por esta razón, se asume que adicionar dosis superiores a las recomendadas de antioxidantes reducen algunos efectos negativos causados por estrés térmico.

Estrategias para reducir los efectos del estrés por calor en rumiantes

El uso de aditivos en la alimentación animal es una práctica común, los principales propósitos de su utilización son: mejorar el comportamiento productivo, salud animal y el producto final (Plascencia, 2015). La regulación en el uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC) ha generado una búsqueda de compuestos catalogados como seguros para utilizarlos como aditivos alimenticios (Cancho et al., 2000). Los extractos vegetales se plantean como una alternativa, ya que algunos de ellos pueden proporcionar los efectos que generan los APC, algunos de los mecanismos que se les atribuyen son: disminución en la oxidación de aminoácidos, acción antimicrobiana, favorecen

la absorción de nutrientes, estimulan el apetito y mejoran el estado inmunológico del animal (Martínez, 2013), por lo cual se plantean como una alternativa potencial para mitigar los efectos del estrés por calor.

Extractos vegetales

Las plantas constituyen una fuente de alimentación muy importante, su valor nutricional y sus compuestos como metabolitos primarios y secundarios han sido estudiados durante varias décadas (Namdeo, 2007), a pesar de que la mayoría de los compuestos que ingresan al rumen son metabolizados por los microorganismos ruminales y convertidos en nutrientes, existen compuestos que por acción directa o a través de sus compuestos (metabolitos secundarios) pueden ocasionar diversos efectos sobre la fermentación ruminal y la salud animal (Carmona, 2007).

Metabolitos primarios de las plantas (MPP): el metabolismo primario de la planta es el total de los procesos que conducen a la producción de MPP (proteínas, carbohidratos, aminoácidos, lípidos y nucleótidos), estos representan aproximadamente el 90% de la materia biológica y son necesarios para el crecimiento de la célula de la planta, los MPP contienen principalmente carbono, nitrógeno y fósforo, se asimilan en la célula vegetal principalmente por tres vías catabólicas: la glucólisis, la vía de pentosas fosfato y el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, debido a su carácter universal, los MPP se encuentran en todas las plantas (Kintzios y Barberaki, 2003; Patra y Saxena, 2010).

Metabolitos secundarios de las plantas (MSP): Los MSP son compuestos orgánicos que se generan en pequeñas cantidades durante los procesos de biosíntesis de la planta; no son necesarios para su supervivencia, le confieren ventajas evolutivas y se sintetizan en respuesta a estímulos ambientales (Vélez-Terranova et al., 2014). Ávalos y Pérez-Urria (2009), menciona que las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de energía a la síntesis de una amplia variedad de MSP. El valor

nutritivo de los forrajes está influenciado por un gran número de factores que pueden afectar la eficiencia con la cual los rumiantes los utilizan, un aspecto que afecta el consumo y la digestibilidad de los forrajes es la presencia de MSP (Carmona, 2007), por lo cual se consideraron factores anti-nutricionales, sin embargo, en la actualidad los MSP se plantean como aditivos alimenticios “naturales”, con los cuales se busca modificar la fermentación ruminal, mejorar el metabolismo de las proteínas, reducir la producción de metano, disminuir el estrés, mejorar la salud y la productividad animal (Patra y Saxena, 2009). Los metabolitos secundarios los podemos clasificar en tres grandes grupo fenoles, terpenos y alcaloides (Figura 2) (García, 2004).

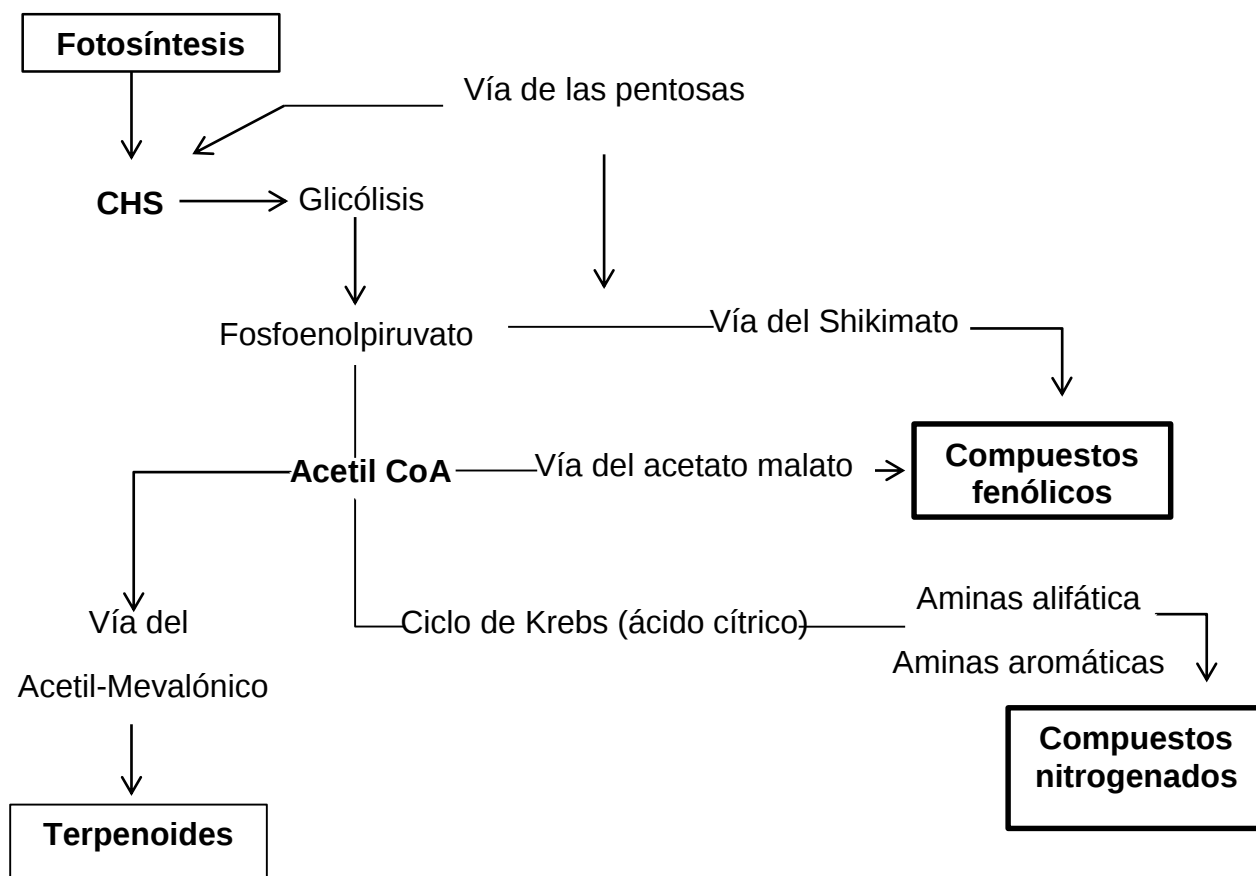


Figura 2. Síntesis de metabolitos secundarios de las plantas.

(García, 2004)

Fenoles: Los compuestos fenólicos se originan a partir de una de las principales clases de metabolitos, la fenilalanina y en menor medida a partir de tirosina, la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su capacidad de quelar iones metálicos que participan en la producción de radicales libres, las estructuras fenólicas a menudo tienen el potencial de interactuar fuertemente con proteínas, debido a sus anillos bencénicos hidrófobos y el potencial de unión a hidrógeno de los grupos hidroxilo fenólicos (Pereira et al., 2009). Hernández (2010), indica que los compuestos fenólicos se pueden clasificar en varios grupos de acuerdo con su estructura química básica (Cuadro 2).

Terpenos: Estos compuestos constituyen la clase más grande de productos naturales con más de 55,000 estructuras conocidos, para su clasificación se toma el número y organización estructural de los átomos de carbono (Cuadro 3), químicamente son hidrocarburos, alcoholes, éteres, aldehídos y cetonas, se encuentran en las plantas, particularmente en las flores y frutos (Chauhan y Varma 2009; Guimarães et al., 2014). Algunos de ellos se pueden utilizar como aditivos alimenticios, las funciones biológicas de los terpenos todavía no se han investigado a fondo, sin embargo, algunas de las propiedades que se les atribuyen son, efectos quimiopreventivos de cáncer, antibióticos, antifúngicos, antiviral, antidiabético, analgésico, anti-inflamatorio y actividades antiparasitarias (Liang y Gou, 2013).

Alcaloides: son uno de los grupos de MSP más diversos, cuentan con alrededor de 12,000 estructuras conocidas, alrededor del 20% de las especies de plantas producen alcaloides (Loyola-Vargas et al., 2004). Los alcaloides se clasifican en: alcaloides isoquinolólicos, alcaloides quinolizidínicos, alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropánicos y alcaloides indólicos (Sepúlveda et al., 2003). Los principales efectos de los alcaloides son actividad anti-inflamatoria, antimicrobiana, analgésicos, debido a su potente actividad biológica, muchos de los 12,000 alcaloides conocidos han sido utilizados como productos farmacéuticos (Barbosa-Filho et al., 2006).

Cuadro 2. Clasificación de los principales compuestos fenólicos de origen vegetal, de acuerdo con su estructura química básica

Esqueleto carbonado	Clasificación
C ₆	Fenoles simples, benzoquinonas
C ₆ -C ₁	Ácidos fenólicos
C ₆ -C ₂	Ácido fenilacético, acetofenoles
C ₆ -C ₃	Ácido hidroxicinámico, polipropano, cumarina, isocumarina
C ₆ -C ₄	Naftoquinona
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xantanos
C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbeno, antraquinona
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides, isoflavonas
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanós, neolignanós
(C ₆ -C ₃ -C ₅) ₂	Bioflavonoides
(C ₆ -C ₃) _n	Ligninas
(C ₆) _n	Melanoidinas
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Taninos

(Hernández, 2010)

Cuadro 3. Tipos de terpenos

Clasificación	Unidades de isopreno	Carbonos
Monoterpenos	2	C10
Sesquiterpenos	3	C15
Diterpenos	4	C20
Sesteterpenes	5	C25
Triterpenos	6	C30

(Chauhan y Varma, 2009)

Metabolitos secundarios con propiedades biológicas para uso como aditivo alimenticio

Taninos

Los taninos son compuestos secundarios de elevado peso molecular presentes en la naturaleza, se encuentran frecuentemente en frutas, árboles, en forrajeras templadas (principalmente leguminosas) y otras especies como sorgo y maíz, estos últimos utilizados comúnmente en la alimentación del ganado (Otero y Hidalgo, 2004). Los efectos anti-inflamatorios de los taninos ayudan a controlar todas las indicaciones de la gastritis, esofagitis, enteritis y trastornos intestinales irritantes (Ashok y Upadhyaya, 2012). Las características químicas más notables de los taninos son su capacidad como agente quelante y secuestrador de radicales libres, su capacidad reductora y su actividad antioxidante, sin embargo, la propiedad más singular de los taninos es su afinidad por las proteínas y otros polímeros tales como los polisacáridos, con los que tiende a formar complejos estables a pH cercanos a la neutralidad (Min et al., 2003). Los taninos se encuentran en muchas leguminosas forrajeras y puede producir efectos benéficos para los rumiantes, tales como una mejor utilización de proteínas de la dieta, tasas de crecimiento más rápidas, incremento en la producción de leche, aumento en la fertilidad, mejora en el bienestar animal y salud animal a través de la prevención de timpanismos y reducción de las cargas parasitarias, algunos pero no todos los taninos pueden reducir la cantidad de proteína que se digiere en el rumen y aumentar la cantidad de proteína que está disponible para la digestión en el intestino delgado (Mueller-Harvey, 2006).

Clasificación de los taninos

Taninos hidrolizables: Los taninos hidrolizables (TH) están compuestos de ésteres de ácido gálico o ácido elágico unidos a una unidad central de carbohidrato, son más susceptibles a hidrolizarse en condiciones fisiológicas (Olivas-Aguirre et al., 2015). A estos compuestos se les atribuyen

principalmente los efectos negativos en los rumiantes que los consumen, provocan intoxicaciones que afecta hígado y riñones, pueden ocasionar la muerte, también se ha reportado que los TH mejoran la absorción de nutrientes, tienen amplia actividad biológica y farmacológica (Martínez-Ortíz, 2010).

Taninos condensados: Los taninos condensados (TC) o proantocianidinas, son más comunes en el reino vegetal en comparación a los TH, estructuralmente son complejos de oligómeros y polímeros de unidades flavonoides, están unidos mediante enlace carbono-carbono y son susceptibles a la degradación enzimática anaeróbica (Márquez y Suárez, 2008). Los TC con su actividad antioxidante tiene la capacidad de evitar la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Vázquez et al., 2012). Vargas (2012), señala que la presencia de leguminosas taníferas en dietas de bovinos y ovinos se ha relacionado con una disminución en las emisiones de metano, diferentes estudios reportan una disminución entre un 12 y un 60% sobre la producción de metano cuando se incluye en la dieta una leguminosa con taninos condensados. Los TC forman complejos tanino-proteína, estos enlaces son estables e insolubles cuando los valores de pH se encuentran entre 3-7, sin embargo, cuando el pH es menor a 3 o mayor a 8 se rompen la unión tanino proteína, esta propiedad para ligar las proteínas a un pH neutro y liberarlas a valores de pH bajo, ha llevado a muchos investigadores a pensar que podrían ser una herramienta útil para reducir la degradación de la proteína en el rumen, incrementando el flujo y la absorción de N y aminoácidos esenciales en el intestino delgado (Carmona, 2007).

Uso de taninos en la alimentación animal

Reis et al. (2005), realizaron un estudio con lechones destetados y castrados (de 20 días de edad y un peso vivo promedio de 6.4 kg), en un diseño de bloques completos al azar para estimar el coeficiente de digestibilidad total

aparente (CDTa) de MS, PC, energía neta (EN), y FDN, por el método de diferencia. Se utilizó una dieta basal compuesta por almidón de maíz y una mezcla de leche descremada en polvo (86%) y caseína (14%), complementada con vitaminas y minerales; para generar las dietas experimentales se estimó la energía aportada por el almidón del maíz en la dieta testigo y las dietas experimentales se formularon para que la energía proveniente de las dietas experimentales fuera la misma del maíz (4 tratamientos y un control), dentro de los cuales están sorgo alto en taninos (55.18% de participación en la dieta con 4.2 % de taninos) y sorgo bajo en taninos (55.18% de participación en la dieta y con 0.02% de taninos). Los resultados indican que el sustituir la fuente de almidón no afecta CMS ni ganancia diaria de peso (GDP) ($P>0.05$), sin embargo, las dietas con sorgo alto y bajo en taninos tuvieron una menor digestibilidad de PC 13% y 11.36% respectivamente en comparación con el grupo control ($P<0.001$), por otra parte, la digestibilidad de la FDN aumento en el tratamiento con sorgo bajo en taninos de forma significativa ($p<0.01$).

Min et al. (2006), realizaron un experimento en novillos con cánulas ruminales para evaluar los efectos de la suplementación de TC. Utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3×2 (3 niveles de TC (0, 1 y 2%) y dos etapas de crecimiento del pasto (estado vegetativo vs. etapa reproductiva). La suplementación de TC se realizó una vez al día, disueltos en agua a 30 °C y colocados en rumen. En esta prueba la GDP incremento en los novillos que recibieron los diferentes niveles TC ($P < 0.04$). También se evaluó el efecto de los TC sobre el timpanismo, la cual disminuye linealmente con el aumento en la suplementación TC.

Beauchemin et al. (2007), evaluaron el efecto de extracto de TC a partir de árboles de quebracho con el objetivo de reducir las emisiones de metano en rumiantes. Para este experimento utilizaron 6 terneras Angus esterilizadas ($238 \pm 13,3$ kg de PV inicial) y 6 novillos Angus (207 ± 8.2 kg de PV inicial). Utilizando un diseño de cuadro latino repetido 3×3 (3 tratamientos (0, 1, y 2% de MS de la dieta como extracto de TC) y 3 periodos de 28 días) con dos grupos asignados en cuatro cuadros (2 cuadros por grupo). Las terneras se asignaron

al grupo 1 y los novillos al grupo 2; dentro de cada grupo se alimentaron 2 animales por tratamiento. La digestibilidad aparente de la PC disminuyó linealmente ($P < 0.001$) en un 5 y un 15% con 1 y 2% de extracto de tanino, respectivamente, por consiguiente, las emisiones de metano se disminuyeron en un 10 y 13% cuando las dosis fueron de 1 y 2% ($P = 0.03$). La concentración de Acetato disminuye de forma línea ($P=0.004$) conforme incrementa la dosis de taninos sin modificar la producción de propionato, por lo cual la proporción Acetato: propionato disminuye de forma lineal ($P=0.03$) conforme incrementa la suplementación con extracto de taninos (Cuadro 4). En concordancia, Berra et al. (2009), observaron en vacas secas en pastoreo suplementadas con 120 g de TC una tendencia a reducir la producción de gases ruminales (25%) y las emisiones de CH_4 (28%) ($P < 0.10$) comparándolas con vacas que no reciben el tratamiento con TC.

Min et al. (2012), realizaron un experimento con cabritos Kiko (27.5 ± 1.4 kg de peso vivo) para evaluar el efecto de corteza de pino como fuente de TC en sustitución de paja de trigo molida, los cabritos fueron asignados al azar a uno de tres grupos en un diseño de bloques completos al azar. Las dietas experimentales fueron las siguientes: control (30 de paja de trigo), PB 15% (15% de paja de trigo y 15% de corteza de pino) y PB 30% (30% de corteza de pino). Las dietas experimentales proporcionan 1.9, 16.3 y 32 g TC por kg MS en 0%, 15% y 30%, respectivamente. Los resultados (Cuadro 5) observados indican que conforme incrementa la sustitución de corteza de pino la GDP y el CMS se incrementan ($P = 0.001$) del mismo modo, cuando reciben los tratamientos PB 15% y PB 30% los cabritos son 12% más eficientes en la utilización del alimento en comparación con el grupo control. Cuando los cabritos recibieron la dieta PB 30% la producción de N amoniacal se redujo en un 29% en comparación al grupo control ($P = 0.03$).

Cuadro 4. Características del rumen de bovinos de carne en crecimiento alimentados con una dieta a base de forraje suplementada con extracto de tanino de quebracho

Concepto	Extracto de tanino de quebracho,% de MS de la dieta			SEM ¹	P-Valores	
	O	1	2		Lineal	Cuadrática
AGV totales, Mm	108.8	100.3	100.4	4.6	0.08	0.29
AGV, mol/100 mol						
Acetato	65.8	65.4	64.6	0.69	0.004	0.50
Propionato	19.0	19.0	19.6	0.55	0.17	0.36
Butirato	10.5	10.4	10.6	0.58	0.69	0.78
Acetato:propionato	3.50	3.47	3.31	0.12	0.03	0.37
NH ₃ , Mm	10.35	9.39	9.08	0.81	0.03	0.50

n¹= 12.

Adaptado de Beauchemin et al. (2007)

Cuadro 5. Efectos de la corteza de pino (PB) sobre la fermentación ruminal y N-Ureico en plasma en cabritos mestizos Kiko

Concepto	Dietas			SEM	P-Valores	
	Control	15% PB	30% PB		Lineal	Cuadrática
Peso inicial, Kg	27.4	27.5	27.3	1.04	0.97	0.91
Peso final, Kg	34.9	37.0	38.0	1.29	0.06	0.89
GDP, g/d	91	114	129	7.28	0.01	0.89
CMS Total, g/d	1,279	1,320	1,509	54.0	0.001	0.30
G:C	0.074	0.086	0.086	0.042	0.04	0.05
AGV totales, mM	59.3	56.2	53.8	2.31	0.13	0.91
AGV, mM						
Acetato	38.8	36.8	33.6	1.64	0.04	0.77
Propionato	12.0	11.3	11.5	0.59	0.62	0.54
Butirato	5.7	6.4	3.8	1.51	0.41	0.30
Isovalerato	0.68	0.52	0.39	0.08	0.01	0.89
Valerato	0.66	0.57	0.57	0.11	0.64	0.77
Acetato:propionato	3.45	2.73	2.80	0.11	0.01	0.01
N amoniacal, mg/DI	11.06	9.8	8.2	0.62	0.003	0.99
N-Ureico en plasma, mg/dL	21.0	22.7	21.9	1.05	0.55	0.32

Adaptado de Min et al. (2012)

Delgado et al. (2013), evaluaron la suplementación con follaje de *L. leucocephala* sobre consumo, producción de metano in vivo y digestibilidad aparente (DA) de MS, MO y FND, en dietas para ovinos en crecimiento. Las dietas consistieron en 63% de forraje fresco de *Pennisetum purpureum* Vc. Cuba CT-169 y 37% de concentrado (dieta control, A) o 63% de forraje fresco de *Pennisetum purpureum* Vc. Cuba CT-169, 27% de *Leucaena leucocephala* y 10 % de concentrado (dieta experimental, B). El periodo experimental fue de 18 días, con 12 de adaptación y 6 de muestreo. Los ovinos que recibieron el tratamiento B incrementaron en un 19% el CMS ($P < 0.01$). No hubo diferencias en cuanto a digestibilidad de MS, MO y FDN. En las emisiones de metano los ovinos que fueron sometidos a la dieta experimental presentaron una disminución del 15% (L/kg de MS consumida) con respecto al grupo control. En otro experimento Ayala (2013), menciona que ovinos de raza Pelibuey alimentados con una dieta de finalización al adicionarles 1.5 % y 2.5 % de taninos, no afecta el CMS, GDP, eficiencia alimenticia ($P > 0.05$) con respecto al tratamiento control, sin embargo, la digestibilidad *in vitro* de las dietas que contienen taninos es menor ($P < 0.05$) en comparación al grupo control.

Saponinas

Las saponinas estructuralmente son compuestos orgánicos que contienen uno o varios azúcares, se componen de un núcleo soluble en grasa, tienen un esteroide o triterpenoide con una o más cadenas laterales de hidratos de carbono solubles en agua, las dos principales fuentes comerciales de saponinas son *Yucca schidigera*, que crece en el desierto mexicano y *Quillaja saponaria*, un árbol que crece en las zonas áridas de Chile (Cheeke, 1999). Cuentan con diferentes propiedades biológicas y fisicoquímica, cuando las saponinas están presentes en los alimentos se les considera como factores anti-nutricionales, son excelentes agentes emulsionantes, tienen acción antimicótica, antiviral y anti-inflamatoria (Díaz, 2009). Diversos estudios han demostrado que el suministro de saponinas en la dieta de rumiantes, mejora el

crecimiento, la eficiencia alimenticia y la salud animal, además tienen efecto sobre las bacterias proteolíticas y disminuye el número de protozoos a nivel ruminal, obteniendo importantes beneficios nutricionales, al disminuir la digestión de proteína en el rumen y reduciendo la producción de amoníaco, lo que resulta en un incremento del flujo de proteína a intestino delgado (Carmona, 2007).

Saponinas esteroideas: este metabolito está disponible en grandes cantidades (5-10%) en los rizomas de estas plantas, algunos de los mecanismos de acción de estos compuestos son: disminuyen la oxidación de los aminoácidos, acción antimicrobiana sobre algunos microorganismos intestinales y favorecen la absorción intestinal, estimulan la secreción de enzimas digestivas, aumentan la palatabilidad de los alimentos y mejoran el estado inmunológico del animal (Jouany y Morgavi, 2007). Algunas saponinas aumentan la permeabilidad de la mucosa intestinal *in vitro*, inhiben el transporte activo y facilitan la absorción de sustancias que normalmente no son absorbidas, además reducen la digestibilidad de la proteína, probablemente por la formación de complejos proteína-saponina (Francis et al., 2002).

Uso de saponinas en la alimentación animal

Wang et al. (2011), realizaron un estudio en novillos en crecimiento y finalización, para evaluar el efecto de diferentes procesamientos del grano de cebada. En un primer experimento utilizaron 180 novillos Británicas x Charoláis (250-300 kg de peso), se agruparon por peso en tres diferentes grupos (60 por grupo) y fueron colocados al azar en uno de seis corrales (10 novillos por corral). Los tratamientos fueron los siguientes: 1) rolado en seco (D), 2) templado durante 4 horas a 18% de humedad y luego rolado (M), 3) templado durante 4 horas a 18% de humedad con 60 ppm de surfactante (a base de saponinas) y luego rolado (MS). Las dietas y el agua se ofrecieron *ad libitum*. Los diferentes procesados de grano no afectan el CMS en las diferentes etapas de la prueba. La GDP en etapa de crecimiento es mayor ($P < 0.05$) cuando los

novillos reciben las dietas M y MS; sin embargo, en etapa de finalización no hay diferencias. La eficiencia alimenticia incrementa ($P<0.05$) en etapa de crecimiento y se observa una tendencia a mejorar ($P<0.10$) en etapa de finalización utilizando las dietas M y MS, como resultado de esto la eficiencia alimenticia en general incrementa ($P<0.05$) utilizando las dietas M y MS comparadas con D. Los novillos alimentados con M presentaron mayor rendimiento en canal ($P<0.01$) y mayor área del músculo *longissimus dorsi* ($P<0.05$) que los alimentados con D o MS. Sin embargo, el grupo alimentado con MS alcanzó el grado más alto de calidad de la canal, que era 5% mayor que D y 28% mayor que M, según el sistema de clasificación de la canal Canadiense.

También realizaron un experimento *in vitro*, en dos periodos experimentales, grano de cebada molido a 1.0 mm sin surfactantes (P1) o rolando al vapor como el procedimiento usado en el corral de engorde (P2). El grano de cebada era laminado a vapor para minimizar el impacto de variación de partículas en la fermentación *in vitro*, ya que utiliza sólo una pequeña cantidad (500 mg) de sustrato. Se añadió un buffer mineral (1.0 ml) que contiene surfactante en cantidades de 0, 2.5, 5.0 o 10 μ l al grano de cebada 16 horas (h) antes de agregarlas al vial. El fluido ruminal que se utilizó fue a partir de dos vacas con cánulas en rumen, alimentadas con una dieta de cebada y silo (40:60). La digestión aparente de MS, almidón y la producción total de gas son menores ($P<0.001$) en el P2, a las 4, 12 y 24 h de incubación. La producción de Acetato disminuye de forma lineal ($P<0.001$) conforme incrementa la dosis de surfactante a las 4 h de incubación y es menor ($P<0.001$) en P2 comparada con el P1 a las 12 h. El Propionato incremento de forma lineal ($P<0.001$) a 4 y 12 h de incubación y presenta una tendencia ($P<0.10$) a incrementar en 24 h de incubación. La producción de Butirato es mayor ($P<0.001$) en el P2 a las 4 y 12 h, comparadas con el P1. La relación Acetato:propionato (A:P) disminuye ($P<0.01$) de forma lineal en el P2 conforme incrementa la dosis de surfactante durante las 24 h de incubación.

Zinn et al. (1998), evaluaron el efecto de humedecer el maíz y adicionar surfactantes a diferentes dosis (43, 172, y 430 mg por kg de maíz) sobre su valor nutritivo antes de ser procesados (rolado). Realizaron dos pruebas una de comportamiento y una de digestión. En el primer experimento se utilizaron 125 novillos mestizos con un peso inicial promedio de 372 kg en etapa de finalización. Las dietas experimentales fueron las siguientes: 1) Maíz rolado en seco (DRC); 2) Maíz rolado en húmedo (TRC), 43 mg de surfactante (SarTemp®) / kg de maíz; 3) Maíz rolado en húmedo (TRC), 172 mg de surfactante (SarTemp®) / kg de maíz; 4) Maíz rolado en húmedo (TRC), 430 mg de surfactante (SarTemp®) / kg de maíz; 5) maíz rolado a vapor (SRC). Los novillos tuvieron acceso ad libitum a los tratamientos y se pesaron al inicio y al final de la prueba. La respuesta de los novillos a las dietas con diferentes niveles de surfactantes fue similar; sin embargo, se observó una tendencia a mejorar ($P<0.10$) la GDP (9%), eficiencia alimenticia (5%) y EN de la dieta (3%) en comparación con el DRC. El peso en canal caliente fue mayor (3%) en las dietas con surfactantes contra DCR. Además el área del ojo de la costilla incremento de forma lineal ($P<0.10$) conforme la dosis de surfactante incrementa en TRC.

El segundo periodo experimental fue una prueba de digestión, utilizaron 5 novillos Holstein con cánulas en rumen y duodeno, utilizando un diseño en cuadro latino. Las dietas experimentales fueron las mismas que en el periodo 1. Las dietas con surfactantes no tienen efecto sobre la digestibilidad de tracto total del N, Almidón y MO, tampoco sobre la energía digestible (ED). Sin embargo, el flujo de MO a duodeno incrementa ($P<0.05$) de forma lineal con las dietas TRC. Como resultado del incremento en las concentraciones de surfactantes disminuye la digestibilidad de la MO, por el contrario la eficiencia nitrógeno microbiano (NM eficiencia) incrementa ($P<0.05$). Sin embargo cuando se utilizó la dieta SFC, el flujo de N no amoniacal, N microbiano a duodeno fue mayor ($P<0.01$), al mismo tiempo el N alimenticio mostro una tendencia a fluir en mayor cantidad a duodeno; la digestibilidad del N post-ruminal y tracto total fue mayor en SFC vs TRC.

Klita et al. (1996), evaluaron la suplementación de saponinas extraídas de raíces de alfalfa (*Medicago sativa*) sobre la concentración de AGV, pH ruminal y número de protozoos en ovinos de la raza Suffolk. Los tratamientos fueron los siguientes 1 (0g de extracto de saponinas al día), 2 (43g de extracto de saponinas al día), 3 (86 g de extracto de saponinas al día) y 4 (172 g de extracto de saponinas al día), utilizando un diseño en cuadro latino 4x4. Debido a que el extracto de saponina contiene 50.6% de sacarosa, se administró sacarosa simultáneamente con saponinas para proporcionar una cantidad similar de sacarosa en todos los tratamientos (86, 64.5, 43 y 0 g de sacarosa). El CMS no es afectado por los niveles de inclusión de saponinas. Sin embargo, cuando los ovinos reciben las dietas 1, 2 y 3 el flujo de MO y N total a duodeno incrementa ($P<0.05$), por el contrario, la digestibilidad ruminal de MO y N disminuye ($P<0.05$). La digestibilidad aparente de tracto total del N disminuye de forma lineal ($P<0.05$) conforme incrementa la dosis de saponinas. Los niveles de inclusión de saponinas no presentaron diferencias en la producción de CO_2 y CH_4 contra el grupo control. Los resultados en la producción de AGV se muestran en el cuadro 6. La producción de Butirato presenta una tendencia a disminuir ($P>0.05$) cuando los ovinos reciben los tratamientos 1, 2 y 3. La producción de ácido Valérico tiende a incrementar ($P<0.10$) y la producción de isobutírico e isovalérico se reduce ($P<0.05$) conforme incrementa la dosis de saponinas (día 14 de muestreo). Indiscutiblemente la inclusión de saponinas tiene efectos positivos sobre las cargas parasitarias, el número de protozoos disminuye de forma lineal ($P<0.01$) conforme incremento el nivel de inclusión de saponinas en la dieta.

Liu y Zhou (2013), realizaron una investigación en gansos de Dongbei blancos (878 ± 13 g de peso vivo y 28 días de edad), con el objetivo de evaluar el efecto de la ingesta de pastos (*Medicago sativa*) como fuente de saponinas sobre las características de la canal, oxidación de lípidos y la composición de ácidos grasos de gansos. Los tratamientos fueron los siguientes: Control (las aves no tenía acceso a los pastos) y pastos (aves con acceso a una pastizal a

Cuadro 6. Efectos de tratamientos con saponina sobre el pH ruminal, poblaciones de protozoos y concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV)

Concepto	Dosis de saponinas (% de MS)					P-Valores ^b	
	0	1	2	4	SEM ^a	L	Q
Día 2							
Protozoos, x 10 ⁵	1.63	1.10	0.30	0.12	0.28	0.007	0.18
pH	6.44	6.54	6.39	5.97	0.06	0.001	0.02
AGV totales, mM	76	73	69	97	2.29	0.001	0.003
Acetato	53	50	47	68	2.2	0.002	0.003
Propionato	15	15	15	20	0.73	0.003	0.03
Butirato	6.4	6.4	5.7	7.7	0.34	0.03	0.03
Isobutírico	0.40	0.46	0.27	0.19	0.06	0.02	0.74
Isovalerato	0.37	0.43	0.24	0.21	0.06	0.06	0.93
Valerato	0.67	0.69	0.70	1	0.08	0.01	0.18
A:P	3.59	3.35	3.27	3.48	0.12	0.69	0.09
Día 14							
Protozoos, x 10 ⁵	1.65	0.95	0.32	0.19	0.12	.001	0.01
pH	6.55	6.61	6.56	6.45	0.09	0.32	0.45
AGV totales, mM	63	67	65	74	7.3	0.35	0.77
Acetato	44	46	44	51	5.0	0.33	0.69
Propionato	12	14	14	14	1.7	0.55	0.64
Butirato	5.5	5.4	5.2	7.0	0.55	0.09	0.20
Isobutírico	0.46	0.41	0.25	0.28	0.06	0.01	0.16
Isovalerato	0.54	0.44	0.29	0.29	0.06	0.01	0.16
Valerato	0.56	0.63	0.66	0.79	0.08	0.08	0.96
A:P	3.52	3.16	3.34	3.64	0.16	0.33	0.12

SEM^a Valores basados en cuatro observaciones en el día 2 y 14.

P^b valor de probabilidad para L= efecto lineal y Q = efecto cuadrático.

Adaptado de Klita et al. (1996)

base de alfalfa). En los 2 tratamientos las aves fueron alimentadas ad libitum, con un concentrado a base de maíz. Los gansos que recibieron el tratamiento experimental fueron colocados en corrales portátiles sobre el pastizal diariamente para estimular el consumo de alfalfa, el consumo de pradera fue estimada en base a la evaluación de los niveles de biomasa presente en el pasto antes y después del pastoreo. La alfalfa tiene 2.27% de saponinas. En el presente estudio los gansos que tuvieron acceso al pastizal presentaron mejoras en la calidad de la canal, disminuyó 12% la cantidad de grasa subcutánea ($P < 0.05$) y 28% la grasa abdominal ($P < 0.05$), no presentaron diferencias en esfuerzo al corte, sin embargo, la luminosidad mejoró ($P < 0.05$) en los gansos que estuvieron en pastoreo. Por otra parte, el consumo de pastos aumentó el ácido linolénico (C18: 3 n-3, $P < 0.05$) y el ácido eicosapentaenoico (C20:5n-3, $P < 0.05$), además, la proporción n-6: n-3 fue menor cuando los gansos estuvieron sometidos a la dieta experimental ($P < 0.05$).

Alcaloides isoquinólicos

Son un amplio y diverso grupo de alcaloides con más de 2500 estructuras definidas, su actividad farmacológica hace que muchos de ellos sean útiles como productos farmacéuticos (Facchini, 2001). Plantas como *Macleaya cordata* son una fuente de compuestos bioactivos (Figura 3), principalmente alcaloides de isoquinolina (Sanguinarina, Queleritrina y Alocryptopina), *M. cordata* está en la lista de Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) de las plantas explotadas como componente de aditivos alimenticios para la producción animal (Kosina et al., 2010). Las principales propiedades de este tipo de alcaloides son: acción antimicrobiana específica (Colombo y Bosisio., 1996; Newton et al, 2002), actividad anti-inflamatoria (Tanaka et al., 1993), efectos inmunomoduladores (Chatuverdy et al., 1997) y funcionan como estimulantes del apetito (Mellor, 2001). Sanguinarina, que es común en la Papaveraceae y Fumariaceae, ha demostrado un control sobre la

inflamación mediante la regulación de un factor de transcripción (Zulak et al., 2006).

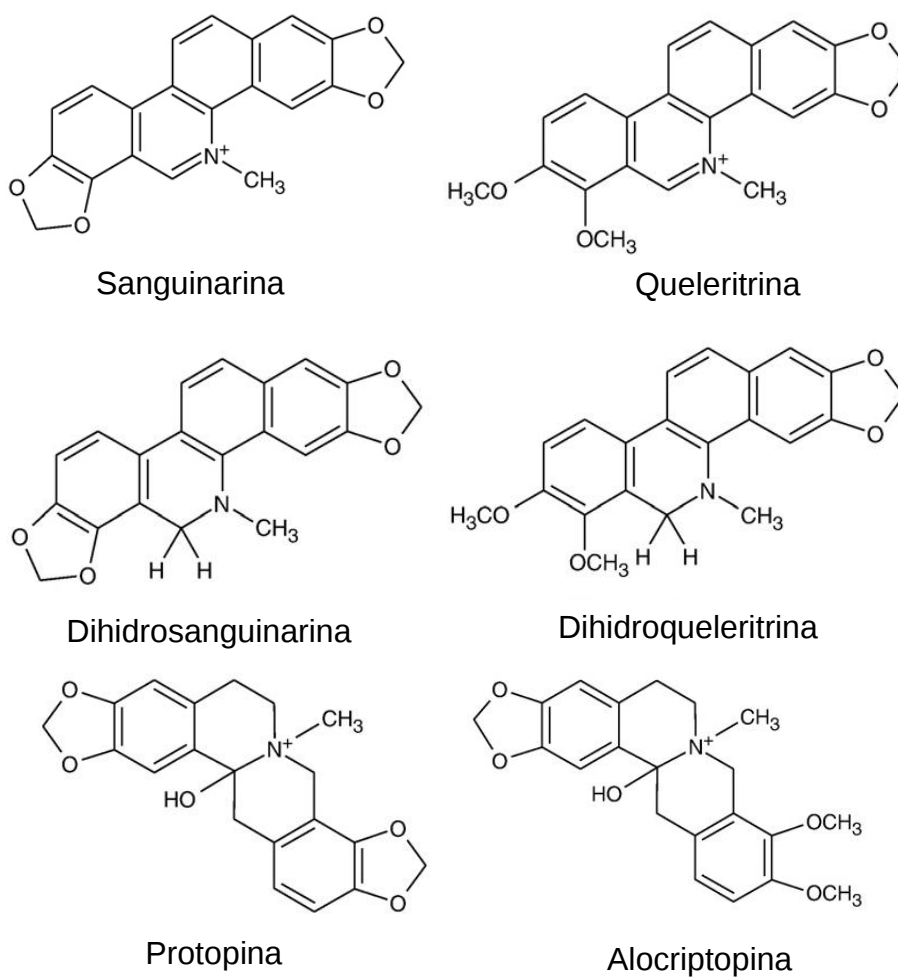


Figura 3. Los principales alcaloides de isoquinolina en la planta *M. cordata*.

(Kosina et al., 2010).

Uso de los alcaloides isoquinólicos en la alimentación animal

Lee et al. (2015) utilizaron 840 pollos Ross en un experimento con una duración de 35 días para evaluar los efectos de la suplementación de Sanguinarina a diferentes dosis sobre el crecimiento, peso de órganos, microflora del ciego, concentración de colesterol y características de la canal. Los pollos se pesaron individualmente y se colocaron al azar en corrales con 30 pollos por corral y con 7 corrales por tratamiento. La fuente de Sanguinarina es Sangrovit® (Sangrovit®, Fitobióticos, Eltville, Alemania). Los tratamientos son los siguientes: dieta basal a base de maíz amarillo (control), control más Avilamicina 10 ppm como promotor de crecimiento (AGP), Sangrovit a 20 (SGV20) y 50 (SGV50) ppm. Los tratamientos y el agua se proporcionaron *ad libitum*. Los pollos alimentados con AGP y SGV50 obtuvieron un peso mayor al final de la prueba ($P<0.05$), la GDP fue mayor a los 35 días para los pollos alimentados con las dietas experimentales (AGP, SGV20 y SGV50) comparadas con el grupo control ($P<0.05$). El CMS durante el periodo de 22-35 días fue mayor para SGV50 el cual fue similar a AGP y SGV20, pero diferente de control ($P<0.05$). Los grupos AGP y SGV20 fueron más eficientes en la utilización del alimento. La suplementación con los diferentes niveles de sanguinarina no presentó efecto sobre el peso de los órganos (bazo y bolsa de Fabricio), grasa abdominal, músculo de la pierna y pecho. El peso de yeyuno fue menor en los pollos alimentados con SAG20 y SAG50; Sin embargo, la longitud de yeyuno e íleon fue mayor en estos grupos ($P<0.05$) comparados con el grupo control. El conteo de coliformes fue similar para todos los tratamientos, por otra parte, el número de bacterias productoras de ácido láctico fue mayor ($P<0.05$) en los tratamientos SGV20 y SAG50 comparadas con el tratamiento control. Los niveles de colesterol fueron significativamente más bajos ($P<0.05$) en los tratamientos con las diferentes dosis de Sangrovit comparadas con el grupo control, además, se midió malondialdehído (MDA) como un indicador del nivel de la preoxidación de los lípidos y se encontró que las dietas adicionadas con Sangrovit tienen niveles más bajos ($P<0.05$) comparadas con los que reciben el tratamiento control y Avilamicina.

Zdunczyk et al. (2010) evaluaron el efecto que genera la inclusión de sanguinarina a base de *M. cordata* en dietas para pollos de engorda. Para este estudio se utilizaron 1000 pollos (Cobb) de un día de edad alojados en dos grupos con 10 repeticiones por grupo y 50 pollos por repetición. Utilizando una dieta basal a base de trigo y maíz (control) y la misma dieta pero con un nivel de inclusión de Sangrovit (30 mg por kg de dieta), los pollos tuvieron acceso *ad libitum* a las dietas y agua. La inclusión de Sangrovit en la dieta de pollos no generó cambios sobre CMS, GDP, conversión alimenticia (CA), producción de amoníaco, MS del contenido cecal; sin embargo el pH de la digesta cecal presenta una tendencia ($P=0.06$) a disminuir en el grupo alimentado con Sangrovit. La inclusión de 30 g/kg de Sangrovit en la dieta incrementa ($P<0.05$) la producción de butirato y el perfil de ácidos grasos de cadena corta (C_4) es mayor ($P<0.05$). En las características de la canal no se observaron diferencias en cuanto a peso y pH (pechuga y muslo) entre los dos tratamientos. La composición de los ácidos grasos de la carne de la pechuga es modificada con las diferentes dietas, la concentración de linoleico y α -linolénico incrementa ($P<0.05$) en el grupo alimentado con Sangrovit, por el contrario esta misma dieta disminuye de forma significativa ($P<0.05$) los siguientes ácidos grasos: oleico, gadoleico, docosapentaenoico y docosahexaenoico comparadas con el tratamiento control. La relación n-6:n-3 incrementa ($P<0.05$) en el grupo alimentado con Sangrovit, por el contrario, la relación C18:1:C18:0 es mayor ($P<0.05$) en el grupo control comparado con los pollos que recibieron la dieta con Sangrovit.

Vieira et al. (2008b), evaluaron el efecto de suplementar diferentes dosis de Sangrovit en dietas para pollos (Cobb x Cobb 500). Utilizaron 1540 pollos alojados en cuatro grupos (44 corrales por grupo y 35 pollos por corral). Las dietas experimentales fueron las siguientes: una dieta basal (maíz y harina de soya) control, suplementado con Sangrovit (50 ppm de 1- 21 d; 25 ppm 22-42 d), ácidos orgánicos (8 kg/ Ton 1-7 d; 6 kg/ Ton 7-21 d; 4 kg/ Ton de 21-35 d y 2 kg/ Ton de 35-42 d) y una mezcla de los dos aditivos (Sanguinarina + ácidos orgánicos). Las dietas experimentales y agua se ofrecieron *ad libitum*. No se

observaron diferencias en el CMS al final de la prueba, solo en el periodo de 22-35d, el grupo alimentado con Sanguinarina + ácidos orgánicos reduce ($P<0.05$) el CMS. La GDP fue mayor ($P<0.05$) en el grupo alimentado con Sanguinarina a los 21d comparado con el grupo control. La conversión alimenticia en los grupos alimentados con Sanguinarina y Sanguinarina + ácidos orgánicos fue mejor ($P<0.05$) a los 42 días comparadas con el grupo control y el grupo que recibió ácidos orgánicos. La morfología intestinal y las características de la canal no fueron afectadas por la suplementación de sanguinarina.

Vieira et al. (2008a), realizaron un estudio para evaluar la inclusión de diferentes niveles de Sangrovit en la alimentación de pollos Ross x Ross 308 (hembras). Las aves se colocaron al azar en uno de 5 grupos, con 8 corrales por grupo y de 10 aves por corral. Se utilizó una dieta basal a base de maíz y harina de soja, la dieta y el agua se ofreció *ad libitum*. Los tratamientos fueron los siguientes: dieta basal (control) y cuatro diferentes niveles de Sangrovit (12.5, 25, 37.5 y 50 ppm). El peso de los pollos incremento de forma lineal en el grupo alimentado con Sangrovit ($P<0.05$) a los 21 días. La conversión alimenticia es mejor ($P<0.05$) en el grupo alimentado con 37.5 ppm en comparación con el grupo control. El consumo de alimento fue mayor ($P<0.05$) en la primer semana en los grupos alimentados con Sangrovit, pero no se observaron diferencias en los periodos siguientes.

Pickler et al. (2013), evaluaron los efectos del uso de sanguinarina en el agua potable en el recuento de *Salmonella* Enteritidis, la morfología intestinal y expresión de células inmunes en la sangre periférica y la mucosa intestinal de los pollos de engorda desafiados con *Salmonella* Enteritidis. Las aves se alojaron al azar en dos tratamientos con 4 réplicas por tratamiento (15 pollos por replica). Tratamiento 1, dieta basal y agua potable sin sanguinarina, tratamiento 2, dieta basal más 100g de sanguinarina por cada 1,000 L de agua, 24 h después del desafío con *Salmonella* Enteritidis durante 6 días. El manejo de las aves fue similar para ambos grupos. El número de muestras positivos y negativos de ciego y cultivos después de la inoculación (DPI) con *Salmonella*

Enteritidis fue menor ($P<0.05$) en el grupo alimentado con sanguinarina a los 7 días. La altura de las vellosidades en duodeno, yeyuno y ciego fue menor en el tratamiento con sanguinarina ($P<0.05$), también la profundidad de las criptas fue afectada con la suplementación de sanguinarina siendo menor ($P<0.05$) en yeyuno e íleon comparadas con el grupo control. El recuento de CD⁺3 fue menor ($P<0.05$) en el grupo alimentado con sanguinarina, por otra parte, el conteo de CD4, CD8, CD8 α , CD8 β , la relación CD4:CD8 α , TCR $\alpha\beta$ V β 1y CD28 fue mayor ($P<0.05$) en el tratamiento con sanguinarina comparada con el grupo control, por lo cual se concluye que la suplementación con sanguinarina mejora la respuesta inmune contra *Salmonella* Enteritidis.

Aguilar-Hernández et al. (2016), evaluaron el efecto de diferentes niveles de inclusión de un extracto vegetal estandarizado que contenía alcaloides cuaternario de benzofenantridina y protopina (QBA+PA) en novillos Holstein alimentados con una dieta de finalización sobre el comportamiento de fermentación ruminal, características de digestión y síntesis de proteína microbiana. Fueron utilizados cuatro novillos Holstein (con cánulas en rumen y duodeno) en un diseño de cuadro latino 4 x 4. La dieta basal fue a base de maíz roado (62%) y heno de Sudán (12%), el resto de la dieta se compone de granos de destilería, melaza, grasa y minerales. Los tratamientos fueron los siguientes 0, 2, 4 o 6 g de Sangrovit-RS por novillos por día, lo que representa un consumo diario de 0, 6, 12 y 18 mg de QBA+PA. Los resultados se muestran en los cuadros 7 y 8. El flujo de MO y nitrógeno microbiano (MN) presentan una tendencia a incrementar ($P=0.06$) conforme incrementa la dosis de QBA+PA. El flujo de nitrógeno no amoniacal (NAN) incrementa de forma lineal ($P=0.04$) conforme incrementa la dosis de QBA+PA, en contraste el flujo de nitrógeno amoniacal (NH₃-N) disminuye de forma lineal ($P<0.01$) conforme incrementa la dosis de Sangrovit-RS. La suplementación con diferentes niveles de QBA+PA no presento efectos sobre la digestión ruminal, postruminal y tracto total de almidón, MO y FDN; sin embargo la eficiencia microbiana y la eficiencia de N incremento ($P=0.04$) a nivel de digestión ruminal, la digestión postruminal y de tracto total del N incrementa ($P<0.01$) conforme aumentaba la dosis de

QBA+PA. La energía digestible de la dieta mostro una tendencia a incrementar ($P=0.09$) conforme la dosis de QBA+PA lo hacía. La suplementación con los diferentes niveles de QBA+PA tiene efectos directos sobre la producción de N amoniacal, el cual disminuye ($P<0.01$) conforme incrementa la dosis administrada. La producción total de AGV y la relación Acetato: propionato no es afectada con la suplementación de QBA+PA. Sin embargo, la producción de Acetato incrementa de forma lineal ($P=0.03$) y la de Valerato disminuye de forma lineal ($P<0.01$) conforme incrementa la dosis de QBA+PA.

Cuadro 7. Influencia del nivel de suplementación de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina (QBA+PA) sobre las características de digestión ruminal y de tracto total en novillos Holstein canulados

Concepto	QBA+PA ¹ , mg*Novillo ⁻¹ *d ⁻¹					Contrastes <i>P</i> -Valores		
	0	6	12	18	SEM	Lineal	Cuadrática	Cúbica
Consumo, g/d								
MS	5,314	5,316	5,318	5,320				
MO	5,007	5,007	5,007	5,007				
FDN	874	874	874	874				
Almidón	2,538	2,538	2,538	2,538				
N	122	122	122	122				
ED, Mcal/d	23.62	23.62	23.62	23.62				
Flujo a duodeno, g/d								
MO aparente	2,438	2,486	2,615	2,485	49	0.27	0.12	0.17
MO microbiana	615	628	659	644	12	0.06	0.27	0.27
FDN	473	471	485	472	28	0.95	0.83	0.74
Almidón	419	393	397	370	52	0.58	0.89	0.91
N	123	125	131	131	2.31	0.05	0.68	0.52
NH ₃ -N	3.91	3.29	2.49	2.54	0.15	<0.01	0.07	0.17
NAN ²	118.7	121.7	128.1	127.8	2.88	0.04	0.59	0.46
NM ³	61.48	62.81	65.83	64.43	1.13	0.06	0.27	0.27
N alimenticio	57.01	58.83	62.27	63.39	2.62	0.10	0.93	0.76
Digestión ruminal, % del consumo								
MO ⁴	59.90	59.26	57.40	59.58	0.92	0.52	0.17	0.25
FDN	45.85	46.03	44.45	46.05	3.20	0.94	0.83	0.74
Almidón	83.51	84.52	84.35	85.38	2.11	0.58	0.99	0.81
N alimenticio	53.13	51.78	48.96	48.04	1.92	0.08	0.73	0.65
Eficiencia Microbiana ⁵	19.37	19.95	21.58	20.36	0.40	0.04	0.11	0.11
Eficiencia de N ⁶	0.97	1.00	1.05	1.05	0.02	0.04	0.59	0.45

Digestión postruminal, % del consumo								
MO	59.53	60.62	64.90	92.02	1.83	0.20	0.32	0.26
FDN	13.79	8.41	14.89	12.65	7.38	0.92	0.84	0.55
Almidón	93.04	91.76	91.49	94.18	1.69	0.68	0.29	0.80
N	71.13	73.21	76.28	75.79	0.68	<0.01	0.11	0.19
Excreción fecal, g/d								
MS	1,113	1,118	1,050	1,083	41.2	0.28	0.56	0.43
MO	985	978	918	943	38.9	0.32	0.70	0.46
FDN	406	424	413	407	13.7	0.84	0.42	0.59
Almidón	27.7	32.6	32.3	20.5	4.19	0.29	0.09	0.75
N	35.3	33.4	30.9	31.5	0.75	<0.01	0.16	0.35
ED, Mcal/d	5.14	5.10	4065	4.82	0.16	0.09	0.55	0.20
Digestión tracto total, % del consumo								
MS	78.67	78.86	80.24	79.61	0.77	0.28	0.58	0.43
MO	80.34	80.46	81.67	81.17	0.78	0.32	0.70	0.46
FDN	53.48	51.45	52.74	53.40	1.57	0.88	0.43	0.60
Almidón	98.91	98.72	98.73	99.19	0.17	0.29	0.09	0.75
N	71.18	72.64	74.60	74.17	0.62	<0.01	0.16	0.35
ED, %	78.25	78.40	80.31	79.59	0.68	0.09	0.54	0.20
ED dietética, Mcal/kg	3.48	3.48	3.57	3.54	0.03	0.09	0.54	0.20

¹La fuente de QBA+PA utilizada fue Sangrovit-RS (Fitobióticos Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Alemania).

²NAN= N no amoniacal

³NM= N microbiano

⁴La materia orgánica fermentada en el rumen se estimó como la MO consumida menos la diferencia entre la cantidad de MO total que llega el duodeno y MO microbiana que llega a duodeno

⁵ Eficiencia microbiana se estima como NM en duodeno (g/kg MO real fermenta en rumen)

⁶Eficiencia de N estimada como NAN (g/g de N consumido)

Adaptado de Aguilar-Hernández et al. (2016)

Cuadro 8. Influencia del nivel de suplementación de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y protopina (QBA + PA) sobre pH ruminal, NH₃-N, concentración de AGV y estimación de producción de metano¹

Concepto	QBA+PA ² , mg*Novillo ⁻¹ *d ⁻¹				SEM	Contrastes <i>P</i> -Valores		
	0	6	12	18		Lineal	Cuadrática	Cúbica
pH	6.27	6.29	6.23	6.44	0.09	0.16	0.55	0.42
N-NH ₃ en Rumen, mg/dl	17.1 ^a	13.1 ^{ab}	10.9 ^b	11.7 ^b	0.57	<0.01	0.05	0.84
AGV totales, moles	72.6	73.8	72.1	70.2	4.3	0.66	0.73	0.90
AGV, mol/100 mol								
Acetato	48.8	53.7	54.4	54.4	1.35	0.03	0.12	0.56
Propionato	30.5	32.3	31.4	30.5	2.65	0.93	0.64	0.82
Butirato	15.2	10.9	11.6	11.9	1.75	0.16	0.20	0.56
Isovalerato	2.5	1.7	1.6	1.7	0.22	0.06	0.09	0.51
Valerato	2.7 ^a	1.4 ^b	1.3 ^b	1.4 ^b	0.11	<0.01	0.01	0.06
Acetato:propionato	1.60	1.66	1.76	1.79	0.24	0.80	0.84	0.96
Producción de metano ³	0.44	0.46	0.48	0.47	0.03	0.39	0.78	0.62

^{Ab} letras diferentes existe diferencia significativa ($P < 0.05$)

¹ promedio de las muestras tomadas después de 4 y 8 h de la alimentación.

² la fuente de QBA+PA fue Sangrovit-RS (Fitobióticos Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Alemania)

³mol por mol de glucosa fermentada (Wolin, 1960)

Adaptado de Aguilar-Hernández et al. (2016).

CONCLUSIONES

La inclusión de alcaloides isoquinólicos (cuaternarios de benzofenantridina y protopina) en dietas de finalización para ovinos ayuda a mitigar los efectos negativos generados por la exposición a condiciones de estrés por calor severas. Incrementa la eficiencia con la que el animal utiliza la energía sin afectar el consumo de materia seca ni las características de la canal. Estas respuestas pueden estar asociadas a mejoras en la fermentación ruminal, así como a una reducción en la inflamación del tracto gastrointestinal y a absorción de nutrientes más eficientes.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Hernández, J. A., J. D. Urías-Estrada, M. A. López-Soto, A. Barreras, A. Plascencia, M. Montaña, V. M. González-Vizcarra, A. Estrada-Angulo, B. I. Castro-Pérez, R. Barajas, H. I. Rogge and R. A. 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. *J. Anim. Sci.* 93: 1–8.
- Arias, R. A., T. L. Mader y P. C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.* 40: 7-22
- Ashok, P. K. and K. Upadhyaya. 2012. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Tannins are Astringent. Uttarakhand (India). *Phytojournal*. 1(3): 45-50. www.phytojournal.com
- Ávalos, G., A. y Pérez-Urria, C. E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.* 2(3): 119-145.
- Ayala-Monter, M. A. 2013. Inclusión de taninos en la dieta de ovinos en finalización: Respuesta en calidad de la carne. Montecillo, Edo. de México. Pag. 1-45.
- Barbosa-Filho, J. M., Piuvezam M. R., Moura M. D., Silva M. S., Batista-Lima K. V., Leitão-da-Cunha E. V., Fachine I. M. and O. S. Takemura. 2006. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 16(1): 109-139.
- Baumgard, L. H and R. P. Rhoads. 2013. Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 1: 311–337.

- Baumgard, L. H. and R. P. Rhoads. 2012. RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM: Ruminant Production and Metabolic Responses to Heat Stress. *J. Anim. Sci.* 90: 1855–1865.
- Beauchemin, K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez and T. A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from quebrachotres to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 85: 1990–1996.
- Bernabucci, U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, R. P. Rhoads, B. Ronchi and A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. Tucson, USA. *Animal*. 4(7): 1167–1183.
- Berra, G., L. Finster y S. E. Valtorta. 2009. Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vacas. *Revista FAVE. Ciencias Veterinarias* 8 (1): 49-56.
- Cancho, G. B., M. S. García-Falcón, y J. Simal-Gándara. 2000. EL USO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL: PERSPECTIVA ACTUAL. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 3(1): 39-47.
- Carmona, A. J. C. 2007. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. Revisión. *Revista lasallista de investigación*. 4(1) 40-50.
- Chaturverdi, M. M., A. Kumar, B. G. Darnay, G. B. N. Chainy, S. Agarwal, B. B. Aggarwal. 1997. Sanguinarine (pseudochelerythrine) is a potent inhibitor of NP-kappa B activation, I kappa B alpha phosphorylation, and degradation. *J. Biol. Chem.* 272: 30129-30134.
- Chauhan, A. K. and Varma, A. 2009. *A Textbook of Molecular Biotechnology*. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd. New Delhi. p. 193.
- Chauhan, S. S., P. Celi, B. J. Leury, I. J. Clarke and F. R. Dunshea. 2014. Dietary antioxidants at supranutritional doses improve oxidative status

and reduce the negative effects of heat stress in sheep. J. Anim. Sci. 92: 3364–3374.

Cheeke, P. R. 1999. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and Quillajasaponariasaponins in human and animal nutrition. American Society of Animal Science. J. Anim. Sci. 77: 1-10.

Collier, R. J., D. K. Beede, W. W. Thatcher, L. A. Israel and C. J. Wilcox. 1981. Influences of Environment and Its Modification on Dairy Animal Health and Production. J. Dairy Sci. 65: 2213-2227.

Colombo, M. L., and E. Bosisio. 1996. Pharmacological activities of *Chelidoniummajus* L. (Papaveraceae). Pharma. Res.33:127-134.

Cuéllar-Ordaz, J. A. 2006. La producción ovina en México. Memorias “primer semana nacional de la ovinocultura. SAGARPA. INIFAP. Tulancingo, Hidalgo. 4 de agosto 2006. p. 11-15.

Delgado, D. C., J. Galindo, J. Cairo, I. Orta, M. Domínguez y Natacha Dorta. 2013. Suplementación con follaje de *L. leucocephala*. Su efecto en la digestibilidad aparente de nutrientes y producción de metano en ovinos. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 47(3): 267-271.

Díaz, P. L. N. 2009. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. Revista de Estudios Transdisciplinarios. 1(2): 32-55.

Echávarri, V. 2013. Carne ovina. Ovinos-carne-producción-comercio. Oficina de estudios y políticas agrarias. www.odepa.gob.cl

Facchini, P. J. 2001. ALKALOID BIOSYNTHESIS IN PLANTS: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. Annu Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 52: 29-66.

- FAO. 2014. Carne y productos cárnicos. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>
- FND. 2015. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. Panorama de la Carne y Lana de Ovino. SHCP. <http://esdocs.com/doc/1078317/panorama-de-la-carne-y-lana-de-ovino>
- Francis, G., Z. Kerem, P. S. H. Makkar and K. Becker. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*. 88: 587-605.
- García, D. E. 2004. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y Forrajes*. 27(1): 1-12.
- Guimarães, G. A., Serafini, R. M. and L. J. Quintans-Júnior. 2014. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment: a patent review. *Expert Opin. Ther. Patents*. 24(3): 243-265.
- Hernández, A. G. 2010. Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Editorial Médica Panamericana. Madrid. 2010. ISBN 978-84-9835-347-1. p. 399.
- Hosseini-Yazdi, M., H. R. Mirzaei-Alamouti, H. Amanlou, E. Mahjoubi, A. Nabipour, N. Aghaziarati and L. H. Baumgard. 2016. Effects of heat stress on metabolism, digestibility, and rumen epithelial characteristics in growing Holstein calves. *J. Anim. Sci.* 94: 77–89.
- Jouany, J. P. and D. P. Morgavi. 2007. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*. 1(10): 1443-1466.

- Kintzios, S. E. and M. G. Barberaki. 2003. PLANTS THAT FIGHT CANCER. Taylor & Francis Ltd. USA and Canadá. ISBN 0-415-29853-9. p. 16-17.
- Klita, P. T., G. W. Mathison, T. W. Fenton and R. T. Hardin. 1996. Effects of Alfalfa Root Saponins on Digestive Function in Sheep. *J. Anim. Sci.* 1996. 74: 1144-1156.
- Kosina, P., J. Gregorova, J. Gruz, J. Vacek, M. Kolar, M. Vogel, W. Roos, K. Naumann, V. Simanek and J. Ulrichova. 2010. Phytochemical and antimicrobial characterization of *Macleayacordata* herb. *ELSEVIER. Fitoterapia* 81: 1006–1012.
- Lambert, G. P. 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J. Anim. Sci.* 2009. 87(E. Suppl.):E101–E108.
- Lee, K., J. Kim, S. Oh, C. Kang and B. An. 2015. Effects of Dietary Sanguinarine on Growth Performance, Relative Organ Weight, Cecal Microflora, Serum Cholesterol Level and Meat Quality in Broiler Chickens. *J. Poult. Sci.* 52: 15-22.
- Liang, L. and Y. Gou. 2013. Terpenes From The Soft Corals Of The Genus *Sarcophyton*: Chemistry And Biological Activites. Review. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*. 10: 2161-2196.
- Liu, H. W. and D. W. Zhou. 2013. Influence of pasture intake on meat quality, lipid oxidation, and fatty acid composition of geese. *J. Anim. Sci.* 91: 764-771.
- Loyola-Vargas, V. M., P. Sánchez-Iturbe, B. Canto-Caché, L. C. Gutiérrez-Pacheco, R. M. Galaz-Ávalos y O. Moreno-Valenzuela. 2004. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 48: 67-94.
- Lu, C. D. 1989. Effects of heat stress on goat production. *Small Ruminant Research*. 2: 151-162.

- Mahjoubi, E., H. Amanlou, H. R. Mirzaei-Alamouti, N. Aghaziarati, M. Hossein-Yazdi, G. R. Noori, K. Yuan and L. H. Baumgard. 2014. The effect of cyclical and mild heat stress on productivity and metabolism in Afshari lambs. *J. Anim. Sci.* 92: 1007–1014.
- Marai, I. F. M. and A. A. M. Haezeb. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress—A review. *Livestock Science* 127: 89–109.
- Marai, I. F. M., A. A. El-Darawany, A. Fadiel, M. A. M. Abdel-Hafez. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Research*. 71: 1-12.
- Márquez, L. D. y A. L. Suárez. 2008. El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de medicina veterinaria*. 16: 87-109.
- Martínez, A. J. A. 2013. Estrategias nutricionales para mejorar la respuesta productiva de cerdos en engorda. Tesis para obtener el grado de doctor. Montecillo, Texcoco, edo. De México. p. 71-92.
- Martínez-Marin, A. L. 2006. Efectos climáticos sobre la producción del vacuno lechero: estrés por calor. España. ISSN 1695-7504. *Revista electrónica de veterinaria REDVET*. 7(10): 1-22.
- Martínez-Ortíz, M. C. 2010. Mecanismos de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de nematodos gastrointestinales de los pequeños rumiantes. Tesis Doctor en Ciencias Agropecuarias. Mérida, Yucatán, México.
- Mellor S. 2001. Natural appetisers from plants. *Feed Mix*. 9: 29-31.
- Min, B. R., S. Solaiman, N. Gurung, J. Behrends, J. S. Eun, E. Taha and J. Rose. 2012. Effects of pine bark supplementation on performance, rumen fermentation, and carcass characteristics of Kiko crossbred male goats. *J. Anim. Sci.* 90: 3556–3567.

- Min, B. R., T. N. Barry, G. T. Attwood and W. C. McNabb. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 106: 3–19.
- Min, B. R., W. E. Pinchak, R. C. Anderson, J. D. Fulford and R. Puchala. 2006. Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and in vitro and in vivo bloat precursors in steers grazing winter wheat. *J. Anim. Sci.* 84: 2546–2554.
- Montossi, F., M. Font-i-Furnols, M. Campo, R. San-Julián, G. Brito and C. Sañudo. 2013. Sustainable sheep production and consumer preference trends: Compatibilities, contradictions, and unresolved dilemmas. *Meat Science*. 95: 772–789.
- Mueller-Harvey, I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 2010–2037.
- Namdeo, A. G. 2007. Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites: A Review. *Pharmacognosy Reviews*. Vol 1, Issue 1. Phcog.Net , All rights reserved. p. 69-79. <http://www.phcogrev.com>
- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera, M. S. Ranieri y U. Bernabucci. 2010. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. Viterbo, Italia. *Livestock Science*. 130: 57–69.
- Newton, S. M., C. Lau, S. S. Gurcha, G. S. Besra, C. W. Wright. 2002. The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *J. Ethnopharmacol.* 79:57-67.
- Olivas-Aguirre, F. J., A. Wall-Medrano, G. A. González-Aguilar, J. A. López-Díaz, E. Álvarez-Parrilla, L. A. De-La-Rosa and A. Ramos-Jiménez.

2015. Taninos hidrolizables, bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos de salud. *Nutr Hosp.* 31(1): 55-66.

Otero, M. y L. G. Hidalgo. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efecto sobre la productividad de ruminantes afectados por parásitos gastrointestinales. *Livestock Research for Rural Development.* 16(2)

Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 275-286.

Partida, J.A., D. Braña, H. Jiménez, F.G. Ríos and G. Buendía. 2013. Producción de carne ovina. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Querétaro, México.

Patra, K. A. and J. Saxena. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek.* 96: 363–375.

Patra, K. A. and J. Saxena. 2010. Review. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71: 1198–1222.

Paula-Lopes, F. F., R. S. Lima, R. A. Satrapa and C. M. Barros. 2013. PHYSIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY SYMPOSIUM: Influence of cattle genotype (*Bos indicus* vs. *Bos taurus*) on oocyte and preimplantation embryo resistance to increased temperature. *J. Anim. Sci.* 91: 1143–1153.

Pereira, D. M., P. Valentão, J. A. Pereira and P. B. Andrade. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules.* 14(6): 2202-2211.

Pérez-Hernández, P., J. Vilaboa-Arroniz, H. Chalate-Molina, B. Candelaria-Martínez, P. Díaz-Rivera y S. López-Ortiz. 2011. Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista Científica, FCV-LUZ.* 21(4): 327-334.

- Pickler, L., B. C. B. Beirão, R. H. Hayashi, J. F. Darau, M. C. Lourenço, L. F. Caron and E. Santin. 2013. Effect of sanguinarine in drinking water on Salmonella control and the expression of immune cells in peripheral blood and intestinal mucosa of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 22: 430–438.
- Plascencia, J. A. 2015. Evaluación de aditivos alimenticios sobre la respuesta productiva de rumiantes finalizados en corral bajo condiciones de alta temperatura ambiental. XXV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Áridos. Ensenada, Baja California, México. Octubre 2015. <http://www.researchgate.net/publication/282507045>
- Reis, S. T. C., G. M. Landín y A. B. Aguilera. 2005. Efecto de diferentes cereales en dietas de iniciación para lechones sobre la digestibilidad de los nutrimentos y la preferencia alimentaria. *Vet. Méx.*, 36 (1): 11-24.
- Roca-Cadeño, A. J. 2011. Efecto del estrés calórico en el bienestar animal, una revisión en tiempo de cambio climático. *Rev. Espamciencia.* 2(1): 15-25.
- Rubianes, E. y R. Ungerfeld. 2002. Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 10(2): 117-125.
- Sepúlveda, J. G., H. D. Porta y M. S. Rocha. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitoterapia.* 21(003): 355-363.
- Sepúlveda, S. W., M. T. Maza and L. Pardos. 2011. Aspects of quality related to the consumption and production of lamb meat. Consumers versus producers. *Meat Science.* 87: 366–372.
- SIAP. 2014. Resumen Nacional. Producción, Precio, Animales Sacrificados y Peso. SAGARPA. <http://www.siap.gob.mx/poblacion-ganadera/>

- Silanikove, N. 1992. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livestock Production Science*. 30: 175-194.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. Reviewarticle. *Livestock Production Science*. 67: 1–18.
- Tanaka T., K. Metori, S. Mineo, M. Hirotani, T. Furuya, S. Kobayashi. 1993. Inhibitory effects of berberine-type alkaloids on elastase. *Planta Medica*. 59: 200-202.
- Vargas, J., E. Cárdenas, M. Pabón y J. Carulla. 2012. EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO EN RUMIANTES EN PASTOREO. *Arch. Zootec*. 61 (R): 51-66.
- Vázquez, F. A. A., E. P. Álvarez, J. A. D. López, A. M. Wall y L. A. De La Rosa. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia. Chihuahua*. 6(2): 84-93.
- Vélez-Terranova, M., R. Campos-Gaona and H. Sánchez-Guerrero. 2014. USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS PARA REDUCIR LA METANOGÉNESIS RUMINAL. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17 (2014): 489 – 499.
- Vieira, S. L., J. Barres, R. N. Reis, O. A. Oyarzabal, J. L. B. Coneglian, D. M. Freitas, J. E. M. Peña and C. A. Torres. 2008a. Studies with Sanguinarine Like Alkaloids as Feed Additive in Broiler Diets. *Brazilian Journal of poultry Science*. 10(1): 67-71.
- Vieira, S. L., O. A. Oyarzabal, D. M. Freitas, J. Barres, J. E. M. Peña, C. A. Torres and J. L. B. Coneglian. 2008b. Performance of Broilers Fed Diets Supplemented with Sanguinarine-Like Alkaloids and Organic Acids. *J. Appl. Poult. Res*. 17:128–13.

- Vitali, A., M. Segnalini, L. Bertocchi, U. Bernabucci, A. Nardone and N. Lacetera. 2009. Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 3781-3790.
- Wang, Y., D. Gibb, D. Greer and T. A. McAllister. 2011. Effects of Moisture and a Saponin-based Surfactant during Barley Processing on Growth Performance and Carcass Quality of Feedlot Steers and on In vitro Ruminal Fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(12): 1690-1698.
- West, J. W. 2003. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. Georgia, USA. *J. Dairy Sci.* 86: 2131–2144.
- Zdunczyk, Z., R. Gruzauskas, J. Juskiewicz, A. Semaskaite, J. Jankowsky, I. Godycka-Klos, V. Jarule, A. Miezeleiene and G. Alencikiene. 2010. Growth performance, gastrointestinal tract responses, and meat characteristics of broiler chickens fed a diet containing the natural alkaloid sanguinarine from *Macleayacordata*. *J. Appl. Poult. Res.* 19: 393–400.
- Zinn, R. A., E. G. Alvarez, M. F. Montano, A. Plascencia and J. E. Ramirez. 1998. Influence of tempering on the feeding value of rolled corn in finishing diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 76: 2239-2246.
- Zulak, K. G., D. K. Liscombe, H. Ashihara and P. J. Facchini. 2006. Chapter 4 Alkaloids. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Publishing Ltd. Crozier, A., M. N. Clifford and H. Ashihara. *Plant Secondary Metabolites occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Publishing Blackwell. p. 102 and 105.

Experimento 1

Running title: Sangrovit supplementation in heat stressed finishing ewes

Influence of quaternary benzophenantridine and protopine alkaloids on growth performance, dietary energy, carcass traits, visceral mass and rumen health in finishing ewes under conditions of severe temperature humidity index

Alfredo Estrada-Angulo, Antonio Aguilar-Hernández¹, Marco Osuna-Pérez, Víctor H. Núñez-Benítez¹, Beatriz I. Castro-Pérez, Gabriela Silva-Hidalgo, Germán Contreras-Pérez, Alberto Barreras¹, Alejandro Plascencia¹¹, and Richard A. Zinn²

Published in Asian-Australasian Journal of Animal Science 2016, 29(5)652-658.

Veterinary and Animal Science School, University Autonomous of Sinaloa, Culiacán 1084, Sinaloa, México

¹Corresponding Author: Alejandro Plascencia. Tel: +52 (686)5636906 ext. 111, Fax +52 (686)5636907, E-mail: aplas_99@yahoo.com; alejandro.plascencia@uabc.edu.mx

¹ Research Institute of Veterinary Sciences, University Autonomous of Baja California, Mexicali 21100, México.

² Department of Animal Science, University of California, Davis, 95616, USA.

ABSTRACT: Twenty Pelibuey × Katahdin ewes (35 ± 2.3 kg) were used in order to determine the effects of the consumption of standardized plant extract containing a mixture of quaternary benzophenanthridine alkaloids and protopine alkaloids (QBA+PA) on growth performance, dietary energetics, visceral mass, and ruminal epithelial health in heat-stressed ewes fed with a high-energy corn-based diet. The basal diet [13.9% crude protein and 2.09 Mcal of net energy (NE) of maintenance/kg of dry matter (DM)] contained 49.7% starch and 15.3% neutral detergent fiber. Source of QBA+PA was SANGROVIT® RS (SANG) which contain 3 g of quaternary benzophenanthridine and protopine alkaloids per kg of product. Treatments consisted of a daily consumption of 0 or 0.5 g SANG/ewe. Ewes were grouped by weight and assigned to 10 pens (5 pens/treatment), with two ewes per pen. The experimental period lasted 70 days. The mean Temperature Humidity Index (THI) during the course of this experiment was 81.7 ± 1.0 (severe heat stress). There were no treatment effects on water intake. Dry matter intake was not affected ($p=0.70$) by treatments, but as a consequence of group fed SANG had a numerically (11.2%) higher gain in comparison to the control group, SANG improved gain efficiency (8.3%, $p=0.04$), dietary net energy (5.2%, $p<0.01$) and the observed-to-expected net energy (5.9%, $p<0.01$). Supplemental SANG did not affect ($p\geq 0.12$) carcass characteristics, chemical composition of shoulder, and organ weights (g/kg EBW) of stomach complex, intestines, and heart/lung. Supplemental SANG decreased liver weight (10.3%, $p=0.02$) and increased visceral fat (16.9%, $p=0.02$). Rumen epithelium of ewes fed SANG had lower scores for cellular dropsical degeneration (1.30 vs 2.34, $p=0.02$), parakeratosis (1.30 vs 1.82, $p=0.03$) and neutrophil infiltration (2.08 vs 2.86, $p=0.05$) than controls. It is concluded that SANG supplementation helped ameliorate the negative effects of severe heat on growth performance of feedlot ewes fed high-energy corn-based diets. Improvement in energetic efficiency may have been mediated, in part, by anti-inflammatory effects of supplemental SANG and corresponding enhancement of nutrient uptake.

Key words: isoquinoline alkaloids, heat stress, high-energy diets, feed efficiency, small ruminants, ruminal epithelial

INTRODUCTION

Heat stress negatively affects daily weight gain and/or feed efficiency of feedlot cattle. Additionally, cattle under heat stress show impaired immune function, particularly as related to the digestive tract, resulting in increased risk of subclinical rumen acidosis (Uyeno, 2015). Antibiotic feed additives have benefited cattle under heat stress, helping to maintain a healthy ruminal epithelium through selective effects on microbial populations (Abdel-Samee, 1995). Niewold (2007) indicate that the effects of dietary supplementation with subtherapeutic levels of antimicrobials may be mediated through anti-inflammatory mechanisms. However, there is mounting concern regarding this practice and the development of antibiotic resistance and public health. Thus, considerable effort has been directed toward advancing the use of more “organic” alternatives. Among these, phytochemical compounds, such as isoquinoline alkaloids extracted from plants as *Macleaya cordata*, have shown promise as feed additives in broilers and pigs (Kantas et al., 2014). The quaternary benzophenanthridine and protopine alkaloids (QBA+PA) have both anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Kosina et al., 2010). These alkaloids have selective effects on microbial growth along the digestive tract (Cushnie et al., 2014). In feedlot cattle, QBA+PA supplementation decreased ruminal ammonia N concentration (Plascencia and Zinn, 2014). Theoretically, all these effects are advantageous for ruminants under heat stress; however, research of the potential of QBA+PA as feed additives for cattle is limited and there is no information available on the effects of QBA+PA supplementation in finishing ruminants under conditions of severe ambient heat load. The aim of this experiment was to evaluate the effects of inclusion of standardized plant extract containing isoquinoline alkaloids (QBA+PA) on growth performance, dietary energy, carcass traits and health of the ruminal epithelium in feedlot ewes fed finishing high-energy diets under conditions of severe temperature-humidity index.

MATERIALS AND METHODS

All animal management procedures were conducted within the guidelines of locally-approved techniques for animal use and care (NOM-051-ZOO-1995: humanitarian care of animals during mobilization of animals; NOM-062-ZOO-1995: technical specifications for the care and use of laboratory animals. Livestock farms, farms, centres of production, reproduction and breeding, zoos and

exhibition hall, must meet the basic principles of animal welfare; NOM-024-ZOO-1995: animal health stipulations and characteristics during transportation of animals.

Weather measurement and THI estimation

Climatic variables (ambient temperature and relative humidity) were obtained every hour from on-site weather equipment (Thermohygrometer Avaly, Mod. DTH880, Mofeg S.A., Zapopan, Jalisco) throughout the experimental period. The temperature humidity index was calculated using the following formula: $THI = 0.81 \times T + RH (T - 14.40) + 46.40$ (Hahn, 1999).

Animals, diet and experimental design

Twenty Pelibuey × Katahdin (35 ± 2.3 kg body weight, BW) ewes were grouped by weight and assigned to 10 pens, with two ewes per pen. Pens had a size of 6 m² with overhead shade, automatic waterers and 1 m fence-line feed bunks. Two weeks before initiation of the experiment, the ewes were treated for parasites (Tasasel 5%, Fort Dodge, Animal Health, México) and injected with 1×10^6 IU vitamin A (Synt-ADE, Fort Dodge Animal Health, México). The source of QBA+PA used was Sangrovit-RS (SANG; Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Germany) which is a standardized plant extract preparation consisting of the QBA+PA extract from *Macleaya cordata*. The extract is a standardized to contain 3 g of quaternary benzophenanthridine and protopine alkaloids per kg of product with a carrier based on rye flour plus salt. Treatments consisted of a basal diet (Table 1) supplemented to provide 0 or 0.5 g/ewe/day of SANG. Ewes were fed 0.3 kg (as fed basis) of the basal diet in the morning feeding (0800 h), and the remainder in the afternoon feeding. To ensure daily consumption, the total daily dosage of SANG was provided in the morning feeding as part of the complete mixed diet. This was accomplished by combining 50 g of SANG (hand-weighed using a precision balance, Ohaus, mod. SCOUT PRO SP401, Pine Brook, NJ) with 30 kg of the basal diet in a 90-kg capacity paddle mixer (Leon Weill mixer, model

30910-7, Coyoacán, Mexico) and mixing for 10 min before feeding to ewes. Ewes were weighed before the morning meal on day 1 and day 70 (harvest). The initial BW was converted to shrunk body weight (SBW) by multiplying the weight by 0.96 to adjust for the gastrointestinal fill, and all ewes were fasted (feed, but not drinking water was withdrawn) for 18 h before recording the final BW. Ewes were allowed ad libitum access to dietary treatments. Daily feed allotments to each pen were adjusted to allow minimal (<5%) feed refusals in the feed bunk. The amounts of feed offered and of feed refused were weighed daily. Ewes were provided fresh feed twice daily at 0800 and 1400 hours. Feed bunks were visually assessed between 0740 and 0750 hours each morning, refusals were collected and weighed and feed intake was determined. Water consumption was measured daily at 0700 h by dipping a graduated rod into the tank drinker (one watering tank for each pen). Once the measure was taken, the remaining water was drained, and the tanks were refilled with fresh water.

Laboratory analyses and calculations

Feed samples were subject to the following analysis: Dry matter (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15; AOAC 2000); ash (method 942.05; AOAC, 2000), Kjeldahl N (method 984.13; AOAC, 2000); aNDFom [Van Soest et al., 1991, corrected for NDF-ash, incorporating heat stable α -amylase (Ankom Technology, Macedon, NY) at 1mL per 100 mL of NDF solution (Midland Scientific, Omaha, NE)]; and starch (method 996.11; AOAC, 2000).

The estimations of dietary energetic and expected dry matter intake were performed based on the estimated initial and final SBW. Average daily gains (ADG) was determined by subtracting the initial BW from the final BW and dividing that result by the number of days on feed. The efficiency of BW gain was computed by dividing ADG by the daily dry matter intake (DMI). The estimation of expected DMI was determined based on observed ADG and average SBW according to the following equation: expected DMI, kg/d = (EM/NE_m) + (EG/NE_g), where EM (energy required for maintenance, Mcal/d = 0.056×SBW^{0.75} (NRC, 1985), EG (energy gain, Mcal/d) = 0.276× ADG× SBW^{0.75} (NRC, 1985), and NE_m and NE_g are 2.05 and 1.38 Mcal/kg, respectively (derived from tabular values based on the ingredient composition of the experimental diet; NRC, 1985). The coefficient (0.276) was estimated assuming a mature weight of 113 kg for Pelibuey × Kathadin (Estrada-Angulo et al., 2013). Dietary NE

was estimated by means of the quadratic formula: $x = (-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}) / 2c$, where $x = \text{NEm}$, $a = -0.41\text{EM}$, $b = 0.877 \text{ EM} + 0.41 \text{ DMI} + \text{EG}$, and $c = -0.877 \text{ DMI}$ (Estrada-Angulo et al., 2013).

Carcass and visceral mass data

After harvest, ewes were skinned, and the gastrointestinal (GIT) organs were separated and weighed. After carcasses (with kidneys and internal fat included) were chilled in a cooler at -2 to 1°C for 48 h, the following measurements were obtained: (1) body wall thickness (distance between the 12th and 13th ribs beyond the ribeye, five inches from the midline of the carcass); (2) fat thickness perpendicular to the *M. longissimus thoracis* (LM), measured over the center of the longissimus muscle between the 12th and 13th rib; (3) LM surface area, measure using a grid reading of the cross sectional area of the longissimus muscle between 12th and 13th rib, and 4) kidney, pelvic and heart fat (KPH). The KPH was removed manually from the carcass, and afterwards weighed and reported as a percentage of the cold carcass weight (USDA, 1982). Shoulders were obtained from the forequarter. The weights of shoulder were subsequently recorded. The shoulder composition was assessed using physical dissection by the procedure described by Luaces et al. (2008).

All tissue weights are reported on a fresh tissue basis. Organ mass was expressed as grams of fresh tissue per kilogram of final empty body weight (EBW). Final EBW represents the final full BW minus the total digesta weight. The stomach complex was calculated as the digesta-free sum of the weights of the rumen, reticulum, omasum and abomasum. The ruminal epithelial histology was evaluated on samples obtained from the rumen (cranial, dorsal and ventral sac) immediately following evisceration. The fixation protocol of ruminal papillae was based upon methodology reported by Graham and Simmons (2005).

Statistical analyses

Performance (DMI, gain, gain efficiency, observed dietary NE, observed-to expected dietary NE ratio, and observed-to-expected DMI ratio) and carcass data were analyzed as a randomized complete block design using pen as the experimental unit. The MIXED procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) was used to analyze variables, with hot carcass weight (HCW) as a covariate when it represented a significant ($p \leq 0.05$) source of variation in analysis of carcass measures. Shoulder composition was analyzed as a general complete block design, including the effect of block $\times$ treatment interaction, together with the effect of cold carcass weight (CCW) as covariate. When the covariate represented a non-significant ($p > 0.05$) source of variation it was not included into the model. The analysis was realized using the MIXED procedure (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Visceral organ mass data were analyzed as a complete block design, including the effect of block $\times$ treatment interaction. The MIXED procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) was used to analyze the variables. Histological changes to ruminal epithelium (edema or inflammation process) were evaluated based on degree changes (considering dropsical degeneration, neutrophil infiltration and parakeratosis), coded as 1=normal, 2=moderate, and 3= intense. Histological data were analyzed using ANOVA, Kruskal-Wallis and Fisher's exact tests ($\alpha = 0.05$). Multiple test comparisons were performed among treatments (LSD). Differences were considered significant when the p-value was ≤ 0.05 , and tendencies were identified when the p-value was >0.05 and ≤ 0.10 .

RESULTS AND DISCUSSION

The experiment was carried out from June to August of 2014, the minimum and maximum estimated THI were 64.50 and 104.20, respectively (Table 2). Daily maximal THI exceeded the threshold THI value of 74 (Mader et al., 2006) for every day of the 70-d study. Average daily THI was 81.7 ± 0.97 . Pelibuey breeds and their crosses adapt well to elevated ambient temperatures (Romero et al., 2013). Nevertheless, based on THI code (Normal THI < 74 ; Alert 75 -79; Danger 79-84, and Emergency > 84), ewes were exposed, on a daily basis, to conditions of severe ambient heat load.

Treatment effects on growth performance and dietary energetics are shown in Table 3. Water intake averaged 7.3 L/d and was not affected ($P=0.19$) by SANG supplementation. Based on NRC (2007)

expected water intake was 6.1 L/d, where water intake, L/d = $(1.25 + 0.18 \times \text{average temperature}) \times \text{DMI}$. This estimate is in good (95%) agreement with measures for non-supplemented ewes, but is considerably less (75%) than observed water intake of SANG supplemented ewes. There is no information related to the effects of supplementation of SANG on water intake. The effect of QBA+PA on water intake of ruminants has not been previously reported. However, the numeric increase is consistent with diuretic effects of QBA+PA observed in rats (Zdarilova et al., 2008).

Dry matter intake averaged 0.890 kg/d and was not affected ($p=0.70$) by treatments. This value is 24% lower than the average DMI of previous reports utilizing lambs with similar breeding and dietary NE concentration (Robles-Estrada et al., 2009; Estrada-Angulo et., 2013). However, the observed marked depression in DMI was in close agreement with the expected reduction in intake (25%) by feedlot lambs subjected to severe heat load (NRC, 1987).

Even though daily gain was not statistically different (averaging 113 g/day), ewe that fed SANG had numerically higher gain (11%) than controls. Under “normal” THI conditions, expected ADG for lambs (NRC, 1985) is about 0.270 kg/d. Previous reports (Robles-Estrada et al. 2009; Estrada-Angulo et., 2013) using lambs of similar breeding observed ADG from 0.200 to 0.300 kg/d. Decreased in ADG is linked in part with reduced feed intake, as well as metabolic changes, during adaptation to “severe” ambient heat load.

SANG improved gain efficiency by 8.3% ($p=0.04$). Increased maintenance requirement in lambs due to metabolic demands to dissipate heat load, reduces energy available for weight gain (NRC, 2007). The estimation of dietary energy and the ratio of observed-to-expected DMI revealed differences in efficiency independent of ADG, providing important insight into potential treatment effects on the efficiency of energy utilisation of the diet. Compared to controls, dietary NE and observed-to-expected dietary NE ratio were 5.2 and 5.8% greater ($p<0.01$), and observed-to-expected DMI ratio was 3.6% lower ($p<0.02$) in ewes supplemented with SANG. Barajas et al. (2014) observed a 3.2% increase in dietary NE of feedlot bulls supplemented with 4 g SANG/day. An alternative approach for expressing SANG effects on animal energetics in the present experiment is to keep the net energy value of the diet constant and present treatment effects solely as a function of changes in the maintenance coefficient, as follows: $MQ =$

$(NEm \times (DMI - (EG/NEg))) / SBW^{0.75}$, where NEm correspond to the NEm of diet (Table 1), $EG = 276 \times ADG \times SBW^{0.75}$ and SBW is the average SBW . Accordingly, ambient heat load increased the maintenance coefficient of control and SANG supplemented ewes by 14.7 and 9.4%, respectively. It was previously reported (Plascencia and Zinn, 2014) that supplemental SANG increased supply of non-ammonia N to the small intestine, as a consequence of a decreased ruminal feed protein degradation and increased microbial protein synthesis in cattle that were fed a high energy finishing diet. Even when the effects of SANG have been not evaluated on ruminal microorganisms *in vivo*, the reduction on peptide degradation and amino acid deamination could be attributed to the selective antimicrobial effects of SANG that could affect the high ammonia-producing bacteria, and/or by inhibition of aromatic amino acid decarboxylase (Drsta et al., 1996). While the increase on microbial protein synthesis could be a reflex of a decrease or the removing protozoa from the rumen by SANG supplementation. Therefore, decreases of the negative impact of high temperatures on energy efficiency may be also partially explained by improves on protein efficiency.

There were no treatment effects ($p \geq 0.12$) on carcass characteristics and chemical composition of shoulder (Table 4). Barajas et al. (2014) also did not observe an effect of supplemental SANG on carcass characteristics of finishing bulls. Likewise, supplemental SANG did not affect carcass characteristics of pigs (Boddington and McOrist, 2011) or breast muscle weight of broilers (Zduńczyk et al., 2010).

There were no supplemental SANG effects on weights (g/kg EBW) of stomach complex, intestines, and heart/lung (Table 5). However, SANG decreased liver weight (10.3%, $p=0.02$), and increased visceral fat (16.9%, $p=0.02$). To our knowledge, no information is available related to the effects of supplementation of SANG on visceral mass of ruminants. In a previous report (Jankowski et al., 2009), supplemental SANG decreased (11.1%) the liver mass in broilers. The basis for increased visceral fat with SANG supplementation is not clear. Previously (Plascencia and Zinn, 2014), supplemental SANG increased ruminal acetate molar concentration, and increased ruminal acetate may contribute to greater visceral fat deposition (Smith and Crouse, 1984).

Rumen epithelium of ewes fed SANG showed less inflammation than that of controls (Figure 1). The score for dropsical degeneration (2.08 vs 2.34, $p=0.02$), parakeratosis (1.30 vs 1.82, $p=0.03$) and

neutrophil infiltration (2.08 vs 2.86, $p=0.05$) were lower for SANG than for controls. Similarly, supplementation of QBA and PA mixtures improved gut health by increasing villi height, villi width, villi height:crypt-depth ratio and surface area of jejunum in broilers under conditions of high ambient heat load (Reansoi, 2002). Likewise, the anti-inflammatory effects of SANG have been reported previously (Kosina et al., 2010), and appears to be more pronounced in animals under conditions that contribute to greater risk of inflammation. Considering that the proportion of soluble sugars and fiber in basal diet (49.7 and 15.3%, respectively, Table 1) and the duration of the finishing period (70 days) the risk factor of presentation of subacute acidosis was high (NRC, 2007), and in ruminants, sub-acute acidosis is a primary cause of inflammatory processes in ruminal rumen epithelial tissue (Plaizier et al., 2012). Niewold (2007) suggested that the effects of growth promoters maybe mediated through anti-inflammatory mechanisms. According to Vieira et al. (2008), this opens a new window of opportunity in the search for additives to promote animal growth. Therefore, it is possible that the search for alternatives to growth promoters does not necessarily mean a search for substances with the same mode of action as antimicrobials.

CONCLUSION

It is concluded that SANG supplementation helped ameliorate negative effects of severe ambient heat load on dietary energetics of ewes fed a high-energy finishing diet, resulting in improved gain efficiency. This effect may have been mediated, in part, by anti-inflammatory effects of supplemental SANG and corresponding enhancement of nutrient uptake.

CONFLICT OF INTEREST

We certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

REFERENCES

- Abdel-Samee, M. M. 1995. Using some antibiotics and probiotics for alleviating heat stresses on growing and doe rabbits in Egypt. *World Rabbit Sci.* 3:107-111.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th edn. Association Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA.
- Barajas, R., B. J. Cervantes, I. Rogge, A. Camacho, and L. R. Flores. 2014. Influence of *Macleaya cordata* preparation on feedlot performance and carcass characteristics of finishing bulls. *J. Anim. Sci.* 92: E-Suppl. 2:771 (Abstr.).
- Boddington, M. and S. McOrist. 2011. Successful amino acid sparing activity by finisher feed supplementation with sanguinarine alkaloids (Sangrovit®). *Proc. 5th Asian Pig Vet. Soc. Congress. Pattaya, Thailand.*
- Cushnie, T. P., B. Cushnie, and A. J. Lamb. 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 44: 377-386.
- Drsata, J., J. Ulrichova, and D. Walterova. 1996. Sanguinarine and chelerythrine as inhibitor of aromatic amino acid decarboxylase. *J. EnzymeInhib.* 10:231-237.
- Estrada-Angulo, A., Y. S. Valdés, O. Carrillo-Muro, B. I. Castro-Pérez, A. Barreras, M. A. López-Soto, A. Plascencia, H. Dávila-Ramos, F. G. Ríos, and R. A. Zinn. 2013. Effects of feeding different levels of chromium-enriched live yeast in hairy lambs fed a corn-based diet: Effects on growth performance, dietary energetics, carcass traits and visceral organ mass. *Anim. Prod. Sci.* 53: 308-315.
- Graham, C. and N. L. Simmons. 2005. Functional organization of the bovine rumen epithelium. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288:173-181.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Dairy Sci.* 82 (Suppl. 2): 10–20.

- Jankowski, J., Z. Zduńczyk, J. Juśkiewicz, K. Kozłowski, A. Lecewicz, and H. Jeroch. 2009. Gastrointestinal tract and metabolic response of broilers to diets with the *Macleaya cordata* alkaloid extract, *Archiv fur Geflügelkunde*. 73: 95–101.
- Kantas, D., V. G. Papatsiros, P. D. Tassis, L.V. Athanasiou, and E.D. Tzika. 2014. The effect of a natural feed additive (*Macleaya cordata*), containing sanguinarine, on the performance and health status of weaning pigs. *Anim. Sci. J.* 96:92-98.
- Kosina, P., J. Gregorova, J. Gruz, J. Vacek, M. Kolar, M. Voguel, W. Ross, K. Naumann, V. Simanek, and J. Ulrichova. 2010. Phytochemical and antimicrobial characterization of *Macleaya cordata* herb. *Fitoterapia*.81: 1006-1012.
- Luaces, M. L., C. Calvo, B. Fernández, A. Fernández, J. L. Viana, and L. Sánchez. 2008. Predicting equation for tisular composition in carcass of Gallega breed lambs. *Arch. Zoot.* 57:3-14.
- Mader, T. L., M. S. Davis, and T. Brown-Brandl. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84:712-719.
- Niewold, T. A. 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poult. Sci.* 86:605–609.
- NRC.1985. Nutrient requirement of sheep. 6th Rev. edn. National Academy Press. Washington, DC, USA.
- NRC. 1987. Predicting Feed Intake of Food-Producing Animals. National Academy Press. Washington, DC, USA.
- NRC. 2007. Nutrient requirement of small ruminant. Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press. Washington, DC, USA.
- Plaizier, J. C., E. Khafipour, S. Li, G. N. Gozho, and D. O. Krause. 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172:9-21.

- Plascencia, A. and R.A. Zinn. 2014. Rumen is not a “Black box”. Proc. Conference Scientific Seminar Managing Ruminant Nutrition- torn between high performance and welfare. Eltville, Germany. File:///C:/Users/Alejandro/Downloads/Phytobiotics%20conference%20manuscript_Plascencia%20and%20Zinn%208-20-2014%20(2).pdf
- Reansoi, A., Y. Ruangpanit, and S. Attamangkune. 2015. Effect of quaternary benzophenantridine and protopine alkaloids on growth response and gut health of broiler under hot climate management. Annual Conference Kasetsart, Banjog, TH. http://www.annualconference.ku.ac.th/cd53/02_019_O253.pdf
- Robles-Estrada, J. C., A. Barreras-Serrano, G. Contreras, A. Estrada-Angulo, J. F. Obregón, F. G. Ríos, and A. Plascencia. 2009. Effect of two β -adrenergic on finishing performance and carcass characteristics in lambs fed all-concentrate diets. J. Appl. Res. 36: 33-36.
- Romero, R. D., A. Montero-Pardo, H. H. Montaldo, A. D. Rodriguez, and J. Hernández-Cerón. 2013. Differences in body temperature, cell viability, and HSP-70 concentrations between Pelibuey and Suffolk sheep under heat stress. Trop. Anim. Health Prod. 45:1691-1696.
- SAS. 2004. User’s guide: statistics, version 9. SAS Inst. Cary, NC.USA.
- Smith, S. B. and J. D. Crouse. 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose of lipogenesis in bovine in muscular and subcutaneous adipose tissue. J. Nutr. 114:792–800.
- USDA. 1982. Official United States Standards for Grades of Carcass Lambs, Yearling Mutton and Mutton Carcasses. Agriculture Marketing Service, USA.
- Uyeno, Y. 2015. Selective inhibition of harmful microbes. In: Ruminant Microbiology: From evolution to revolution (Ed. A.K. Puniya, R. Singh, and D.N. Kamra). Springer India, New Delhi. pp. 199-212.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. DairySci. 74: 3583–3597.

- Vieira, S. L., O. A. Oyarzabal, D. M. Freitas, J. Berres, J. E. M. Pena, C. A. Torres, and J. L. B. Coneglian. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with sanguinarine-like alkaloids and organic acid. *J. Appl. Poul. Res.* 17: 128–133.
- Zdarilova A., E. Vrublova, J. Vostalova , B. Klejdus, D. Stejskal, J. Proskova, P. Kosina P, A. Svobodova, R. Vecera, J. Hrbac, D. Cernochova , J. Vicar, J. Ulrichova, and V. Simanek. 2008. Natural feed additive of *Macleaya cordata*: safety assessment in rats a 90-day feeding experiment. *Food Chem. Toxicol.* 46: 3721–3726.
- Zduńczyk, Z., R. Gružasuskas, J. Juškiewicz , A. Semaškaitė, J. Jankowski, I. Godycka-Kłos , V. Jarule, A. Miezeleiene , G. Alencikiene . 2010. Growth performance, gastrointestinal tract response, and meat characteristics of broiler chickens fed a diet containing the natura alkaloid sanguinarine from *Macleaya cordata*. *J. Appl. Poult. Res.* 19: 393–400.

Table 1. Ingredients and composition of basal diet fed to ewe (% of dry matter)

Item	Diet composition (% DMB)
Ingredient	
Dry-rolled white corn	70.00
Soybean meal	8.00
Sudan grass hay	10.00
Molasses cane	7.50
Yellow grease	2.00
Trace mineral salt ¹	2.50
Chemical composition ^b (% DM basis)	
Crude protein	13.86
Ether extract	5.13
NDF	15.35
Starch	49.65
Calculated net energy (Mcal/kg of DM basis)	
Maintenance	2.05
Gain	1.38

¹ Mineral premix contained: CP, 50%; Calcium, 28%; Phosphorous, 0.55%; Magnesium, 0.58%;

Potassium, 0.65%; NaCl, 15%; vitamin A, 1,100 IU/kg; vitamin E, 11 UI/kg; ^bBased on tabular net energy (NE) values for individual feed ingredients (NRC, 2007).

Table 2. Ambient temperature (Ta), relative humidity (RH) and calculated temperature-humidity index (THI) ¹ registered every hour and expressed as a weekly average)

Week	Mean T _a , °C	Min T _a , °C	Max T _a , °C	Mean RH, %	Min RH, %	Max RH, %	Mean THI	Min THI	Max THI
1	33.10± 1.6	21.40±2.0	41.10± 1.0	48.2±8.8	16.0± 12.0	92.0± 10.9	82.2±8.3	64.50±2.6	104.2±4.3
2	31.80±1.4	20.89±1.0	39.51±1.3	49.60±3.4	24.29±7.9	92.43±3.0	80.80±2.8	64.89±0.7	101.62±2.7
3	31.28±1.2	21.50±0.9	39.26±0.7	51.48±7.4	27.89±3.6	79.29±17.3	80.42±6.9	65.79±0.7	97,91±4.9
4	29.90±1.5	23.10±0.9	37.14±0.8	69.14±7.7	41.34±10.1	93.40±5.0	81.33±6.6	68.71±1.4	97.73±1.3
5	31.99±2.0	23.93±0.5	38.61±0.6	58.74±5.9	38.10±3.6	91.57±5.1	82.65±4.6	69.41±0.4	99.85±1.0
6	32.03±1.9	24.81±1.6	38.51±1.5	59.15±7.2	35.81±4.9	84.43±6.5	82.77±6.1	70.23±2.2	97.96±3.3
7	33.14±0.9	23.69±1.4	39.06±1.6	51.49±5.1	32.60±3.9	87.31±3.8	82.89±4.9	68.61±1.8	99.57±3.2
8	30.16±1.6	23.84±0.9	37.44±1.8	60.76±9.9	36.73±3.7	87.36±2.8	81.52±0.8	69.18±0.8	96.86±3.3
9	30.24±1.3	24.57±1.1	36.69±1.3	65.19±6.5	40.87±5.8	88.74±1.8	81.22±5.5	70.46±1.2	95.89±2.2
10	29.76±1.9	20.93±1.1	30.83±2.2	65.18±7.8	35.87±5.5	77.64±1.6	80.52±6.4	65.69±1.6	84.13±3.6
Mean.	31.34±1.3	22.86±1.6	37.82±2.8	57.89±7.4	32.95±8.0	87.41±5.6	81.67±1.0	67.74±2.3	97.57±5.4

¹ THI = 0.81 × ambient temperature + [(relative humidity × (ambient temperature- 14.4)] + 46.4. THI code (Normal THI < 74;

Alert 75-79; Danger 79-84, and Emergency > 84).

Table 3. Effects of SANGROVIT-RS supplementation (0.5 g/head/day) on growth-performance

and dietary energy in ewes under hot environment fed with high-energy corn-based diet

Item	SANG intake, g/d		SEM ¹	P-value ²
	0	0.5		
Days on feed	70	70		
Water intake (L/pen)	6.44	8.10	1.06	0.19
Body weight (kg) ³				
Initial	38.19	38.14	0.02	0.31
Final	45.64	46.45	0.38	0.21
DM intake (g/d)	880	895	26	0.70
DM intake (% LW)	2.11	2.12	0.05	0.85
ADG (g/d)	107	119	6	0.20
Gain for feed	0.121	0.133	0.002	0.04
NE diet (Mcal/kg)				
Maintenance	1.87	1.96	0.01	<0.01
Gain	1.23	1.31	0.009	<0.01
Observed- to-expected NE				
Maintenance	0.91	0.96	0.005	<0.01
Gain	0.89	0.95	0.006	<0.01
Observed-to-expected DMI ⁴	1.10	1.06	0.007	0.012

¹SEM= standard error of mean.²P = observed treatment effect.³ The initial BW was reduced by 4% to adjust for the gastrointestinal fill, and all ewes were fasted (food but not drinking water was withdrawing) for 18 h before recording the final BW.⁴Observed-to-expected DMI is according to ADG and NE diet concentration.

Table 4. Effects of SANGROVIT-RS supplementation (0.5 g/head/day) on carcass characteristics and shoulder composition in ewes under hot environment fed with high-energy corn-based diet

Item	SANG intake, g/d		SEM ^a	P-value ^b
	0	0.5		
HCW (kg)	26.45	27.05	0.29	0.21
Dressing percentage	57.95	58.25	0.43	0.64
CCW (kg)	25.88	26.56	0.28	0.17
LM area (cm ²)	15.41	15.55	0.35	0.76
Fat thickness (mm)	5.71	5.32	0.30	0.41
KP fat (%)	2.40	2.76	0.34	0.50
Body wall thickness (mm)	20.3	23.1	0.79	0.06
Shoulder composition (g/kg)				
Muscle	615	612	0.96	0.83
Fat	192	205	14.2	0.56
Bone	182	178	5.2	0.29

¹ SEM= standard error of mean.

² P = observed treatment effect.

Table 5. Effects of SANGROVIT-RS supplementation (0.5 g/head/day) visceral organ mass in ewes under hot environment fed with high-energy corn-based diet

	SANG intake, g/d			
Item	0	0.5	SEM ¹	P-value ²
Organ weight (g/kg EBW)				
Stomach complex	30.14	33.39	1.35	0.12
Intestines	48.03	49.60	2.20	0.62
Liver	17.05	15.29	0.44	0.02
Heart/ lungs	24.61	24.98	0.66	0.69
Visceral fat	40.20	48.42	2.17	0.02
Histological changes of ruminal epithelium ³				
Dropsical degeneration	2.34	1.30	0.30	0.02
Neutrophil infiltration	2.86	2.08	0.25	0.05
Parakeratosis	1.82	1.30	0.15	0.03

¹ SEM= standard error of mean.

² *P* = observed treatment effect.

³ Histological changes were coded as 1=normal, 2=moderated, and 3= intense.