



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE COMPUESTOS POLIHERBALES SOBRE  
PARÁMETROS PRODUCTIVOS, CALIDAD DE LA CANAL E INDICADORES  
ECONÓMICOS EN CONEJOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

Doctora en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

PRESENTA

M en C. Minerva Jaurez Espinosa

Centro Universitario UAEM Amecameca, Estado de México, abril 2022



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE COMPUESTOS POLIHERBALES SOBRE  
PARÁMETROS PRODUCTIVOS, CALIDAD DE LA CANAL E INDICADORES  
ECONÓMICOS EN CONEJOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

Doctora en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

**PRESENTA**

**M en C. Minerva Jaurez Espinosa**

**COMITÉ DE TUTORES:**

Dr. Enrique Espinosa Ayala. Tutor académico

Dr. Pedro Abel Hernández García. Tutor adjunto

Dra. Amada Isabel Osorio Teran. Tutor adjunto

Centro Universitario UAEM Amecameca, Estado de México, abril 2022

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar las mezclas herbales de BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), en dieta para conejo y su efecto sobre respuesta productiva, rendimiento de la canal, indicadores económicos productivos y calidad de la carne. Al destete se asignaron 40 gazapos distribuidos aleatoriamente a 5 tratamientos (8 conejos/tratamiento). La dieta control (0.0 mg kg<sup>-1</sup>) se diseñó hipovitaminica e isoenergética. Los grupos control recibieron la misma dieta durante todo el experimento (34 días). Los otros grupos recibieron dieta control más la adición de 200, 400, 600 y 800 mg kg<sup>-1</sup> de la mezcla herbal. Se determinó peso inicial, final, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, peso de la canal caliente y fría y costos económicos de producción. Los parámetros de color, pH, pérdida de agua por goteo, presión y cocción se determinaron en músculo *Longissimus dorsi* a las 24hr *postmortem*. Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo de polinomios ortogonales para determinar efectos lineales y cuadráticos, con un nivel de significancia de P<0.10. En el experimento de colina conjugada (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*) se obtuvieron parámetros productivos similares entre los grupos, excepto en consumo de alimento (P=0.006) y conversión alimenticia (P=0.005) con un efecto linealmente a medida que el aditivo aumentaba. Se presentó incremento de pH en carne (lineal, P=0.004) y coordenada *b*\* (lineal, P=0.009) con la adición de la mezcla herbal, también se observó que el tratamiento con 200 mg kg<sup>-1</sup> presentó los mejores indicadores económicos con 9 unidades porcentuales en la razón ingresos egresos. El experimento con la mezcla herbal con *Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*, no se presentó cambios significativos en respuesta productiva (P>0.10), mientras que en calidad de la carne los valores en *L*\* tuvieron efecto lineal (P=0.0009) y cuadrático (P=0.08), en porcentaje de pérdida de agua por cocción y presión el comportamiento fue lineal (P=0.10). La relación ingreso/egreso tanto para animal vivo como canal caliente y fría son mínimas entre los grupos con adición y el grupo control, incluso el tratamiento de 200 mg kg<sup>-1</sup> es inferior al control. El experimento con el polihierbal a base de *Phyllanthus*

*emblica*, tuvo efecto sobre el atributo de  $L^*$  (lineal,  $P=0.002$  y cuadrático,  $P=0.001$ ) y en porcentaje de pérdida de agua por presión (lineal,  $P=0.0003$  y cuadrático,  $P=0.08$ ), así mismo se observó efecto lineal en  $b^*$  ( $P=0.004$ ) y efecto cuadrático en pérdida de agua por goteo y cocción ( $P=0.10$ ). En costos económicos los tratamientos con aditivo presentaron un mayor ingreso/egreso en animal vivo, canal caliente y fría obteniéndose los mejores beneficios con la adición de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Se puede concluir que la adición de mezclas herbales con conjuntos de colina ( $200 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Vitamina C ( $600 \text{ mg kg}^{-1}$ ) son una opción como aditivos alimenticios para conejos en crecimiento, al mejorar la rentabilidad y mantener respuesta productiva y no modificar la calidad de la carne, no así para Vitamina E, la cual no se observaron beneficios en rentabilidad económica, respuesta productiva, rendimiento de la canal o calidad de la carne.

**Palabras clave:** ácido ascórbico, aditivos alimenticios fitogénicos, alimentos funcionales, colina natural, nutracéuticos,  $\alpha$ -tocoferol, vitaminas

## ABSTRACT

The objective of research was to evaluate the addition of herbal mixtures of BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* and *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* and *Emblica officinalis*) and Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), on growth performance, carcass traits, productive economic indicators, and quality of rabbit meat. At weaning, 40 rabbits were randomly assigned to 5 treatments (8 rabbits/treatment). The control diet con 0.0 mg kg<sup>-1</sup> was designed hypovitaminic and isoenergetic. The control groups received the same diet throughout the experiment (34 days). The other groups received a control diet and the addition of 200, 400, 600 and 800 mg kg<sup>-1</sup> of the herbal mixture. Initial and final weight, daily weight gain, feed conversion, hot and cold carcass weight and economic production costs were determined. The parameters of color, pH, loss of water by dripping, pressure and cooking were determined in *Longissimus dorsi* muscle at 24hr *postmortem*. A completely randomized design with an orthogonal polynomial arrangement was used to determine linear and quadratic effects, with a significance level of P <0.10. The conjugated choline experiment (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* and *Andrographis paniculata*) obtained similar productive parameters between the groups, except in food consumption (P=0.006) and feed conversion (P=0.005) with effect linearly as the additive increased. There was an increase in pH in meat (linear, P=0.004) and coordinate *b*\* (linear, P= 0.009) with the addition of the herbal mixture, it was also observed that the treatment with 200 mg kg<sup>-1</sup> presented the best economic indicators with 9 units percentages in the income and expenses ratio. The experiment with the herbal mixture with *Ocimum sanctum* and *Emblica officinali*, did not show significant changes (P>0.10), growth performance, while in meat quality the values in *L*\* had linear effect (P=0.0009) and quadratic. (P=0.08), in percentage of water loss due to cooking and pressure, the behavior was linear (P=0.10). The income/cost relationship for both live animals and hot and cold carcasses are minimal between the groups with addition and the control group, even the treatment of 200 mg kg<sup>-1</sup> is lower than the control. The experiment with the polyherbal based on *Phyllanthus emblica*, influenced the attribute of *L*\* (linear, P=0.002 and quadratic, P=0.001) and on the percentage of water loss due to pressure (linear, P=0.003 and quadratic, P=0.08), likewise, a linear effect was observed in *b*\*

( $P=0.004$ ) and a quadratic effect in loss of water through dripping and cooking ( $P=0.10$ ). In economic costs, the additive treatments presented a higher ration income/cost in live animals, hot and cold carcasses, obtaining the best benefits with the addition of  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ . The conclusion that the addition of herbal mixtures with choline sets ( $200 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and Vitamin C ( $600 \text{ mg kg}^{-1}$ ) are an option as feed additives for growing rabbits, by improving profitability and maintaining productive response and do not modify the quality of the meat, not so for Vitamin E, which did not observe benefits in economic profitability, productive response, carcass performance or meat quality.

**Key words:** ascorbic acid, phytogetic feed additives, functional foods, natural choline, nutraceuticals,  $\alpha$ -tocopherol, vitamins

## **AGRADECIMIENTO**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca para posgrado, la cual me permitió realizar esta investigación.

A la Universidad Autónoma del Estado de México por permitirme realizar los estudios en Doctorado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales sobre el efecto de las mezclas poliherbales en conejos.

Así mismo a la empresa Technofeed México por el financiamiento y a la Universidad Autónoma de México por las facilidades prestadas para la realización del proyecto con número de registro 4599/2018E y con el título “Efecto de productos poliherbales en la alimentación de becerras Holstein”.

En primer lugar, expreso mi agradecimiento al director de esta tesis doctoral, Dr. Enrique Espinosa Ayala por haberme confiado este proyecto de investigación, por la dedicación y apoyo brindado, también a los asesores, Dr. Pedro Abel Hernández García y Dra. Amada Isabel Osorio Teran, así mismo a la maestra María Zamira Tapia Rodríguez, gracias a todos por su tiempo, dirección, respeto y experiencia, en todo el proceso de aprendizaje académico y profesional, también agradezco a mis compañeros y compañeras por los buenos momentos compartidos personales y profesionales.

Y por supuesto mi dedicatoria, agradecimiento y respeto infinito a mi familia por acompañarme en cada una de mis decisiones y desvelos, por el apoyo incondicional y paciencia.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	I
ABSTRACT .....	III
AGRADECIMIENTO .....	V
1 INTRODUCCION .....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Fisiología del sistema digestivo del conejo .....	2
2.2 Función y Diversidad de la microbiota gastrointestinal del conejo.....	10
2.3 Nutraceúticos utilizados en producción animal .....	12
2.3.1 Metabolitos primarios y secundarios de las plantas .....	18
2.3.2 Fitogénicos .....	19
2.3.3 Compuestos fenólicos.....	20
2.4 Conjugados de colina (BioCholine®).....	22
2.4.1 Metabolismo y absorción de colina y biosíntesis de fosfatidilcolina .....	24
2.4.2 Plantas que integran la mezcla herbal BioCholine ®: .....	25
2.5 Vitamina E: (Herbal E®).....	27
2.5.1 Metabolismo y absorción .....	29
2.5.2 Plantas que integran la mezcla herbal.....	30
2.6 Vitamina C: (Herbal C®).....	31
2.6.1 Metabolismo y absorción .....	33
2.6.2 Plantas que integran la mezcla herbal.....	35
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	36
4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	37
5 HIPÓTESIS .....	38
6 OBJETIVO.....	39
6.1 Objetivo general.....	39
6.2 Objetivos específicos .....	39
7 MATERIALES Y MÉTODOS .....	40
7.1 Animales y dietas .....	40
7.2 Respuesta productiva .....	41
7.3 Recolección y análisis de muestras.....	41
7.3.1 Análisis de calidad de la carne 24 horas postmortem.....	42

7.4	Análisis económico de producción .....	43
8	Análisis estadístico.....	44
9	RESULTADOS.....	45
10	CONCLUSIÓN GENERAL.....	47
11	SUGERENCIAS.....	48
12	LITERATURA CITADA.....	49

## 1 INTRODUCCION

A pesar que el uso de antibióticos en producción animal en un inicio se administraron con el objetivo de eliminar o inhibir el crecimiento de bacterias patógenas para proteger la salud, resulto un hallazgo que su uso aumentaran la ganancia de peso y mejoraran la eficiencia alimenticia, sin embargo, el manejo indiscriminado e inadecuado como el incumplimiento en los períodos de retiro, dio como resultado la aparición de bacterias resistentes y reducción de la eficiencia en los tratamientos terapéuticos, así como la presencia de residuos en alimentos derivados de los animales, ocasionando que se presentaran riesgos en la salud humana al presentarse con mayor frecuencia alergias, efectos tóxicos y adquisición de resistencia a fármacos (Gaskins *et al.*, 2002; Qian *et al.*, 2016), lo que fueron prohibidos como promotores de crecimiento, situación que dio paso a la búsqueda nuevas alternativas seguras y eficientes, con la intención de reducir o eliminar el uso de los antibióticos como promotores o potencializadores de crecimiento, entre las nuevas estrategias se han encontrado aditivos de origen natural provenientes principalmente de hierbas y vegetales (Salajegheh *et al.*, 2018).

Por lo que en los últimos años el interés en producción animal se centra en utilizar compuestos bioactivos contenidos en plantas como aditivos, con la intención de mejorar respuesta productiva (estimulante del apetito), rendimiento de la canal, calidad de carne (Dalle Zotte *et al.*, 2016; Celi *et al.*, 2017Ayala Martínez *et al.*, 2020), así como optimizar los productos derivados (Madhupriya *et al.*, 2018), al retardar la oxidación de los lípidos y evitar cambios en características de la carne en color, sabor, olor, textura e incluso valor nutricional (Adeyemi *et al.*, 2016).

Dentro de estos aditivos se encuentran hierbas, aceites esenciales y extractos (Salajegheh *et al.*, 2018), con alto contenido en metabolitos secundarios como alcaloides, fenoles, terpenoides, esteroides, tanino, saponinas, compuestos fenólicos (flavonoides, flavones, isoflavones), antocianinas, lignanos, estilbenos, cumarinos, carotenoides (tetraterpenos), quinonas, entre otros (Irchhaiya *et al.*, 2015), ejerciendo funciones como agentes antimicrobianos, antiparasitarios, antifúngicos, antiinflamatorios, antiulcerosos, antivirales, anticancerígenos, antioxidantes, inmunoestimulantes, cardio, gastro, nefro y

neuroprotectores, (Mehmood *et al.*, 2012; Dasaroju y Gottumukkala 2014; Syahidah *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2017; Waszkiewicz–Robak *et al.*, 2017).

Algunos grupos de investigadores han reportado beneficios al utilizar compuestos fitoquímicos en producción animal como los de Reyes–Camacho *et al.*, (2020) en lechones y encontrar un aumento en el número de lechones vivos, así como inhibición de *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, o como los de Celia *et al.*, (2016) con una mezcla herbal, Abdallah y Ebrahiem, (2020) con *Moringa olifera* y *Prosopis chilensis* y Sharma *et al.*, (2019) con *Achyranthes aspera*, en los que se mejoró ganancia de peso, conversión y eficiencia alimenticia o resultados al emplear colina y presentarse disminución en las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad y lipoproteínas de baja densidad aumentaron en músculo *Longissimus dorsi* (Li *et al.*, 2015) e incluso con la adición de *Zingiber officinale* y Vitamina E se disminuyeron niveles de cortisol (Asker *et al.*, 2021).

El modelo productivo que se empleó en la presente investigación es el conejo, el cual es criado como especie agrícola para la producción de carne, al presentar varias ventajas como tasa de crecimiento rápido, ciclo reproductivo corto, alta prolificidad, adaptabilidad a las condiciones de la granja y capacidad para prosperar con ingredientes fibrosos, además, que su carne ofrece excelentes propiedades nutritivas y dietéticas, como alto contenido de proteínas, bajo efecto colesterolémico y bajo nivel de sodio (De Blas, 2013).

Bajo este contexto, el propósito de esta investigación fue evaluar la adición de mezclas herbales de BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), sobre respuesta productiva, rendimiento de la canal, indicadores económicos productivos y calidad de la carne en conejo.

## **2 REVISIÓN DE LITERATURA**

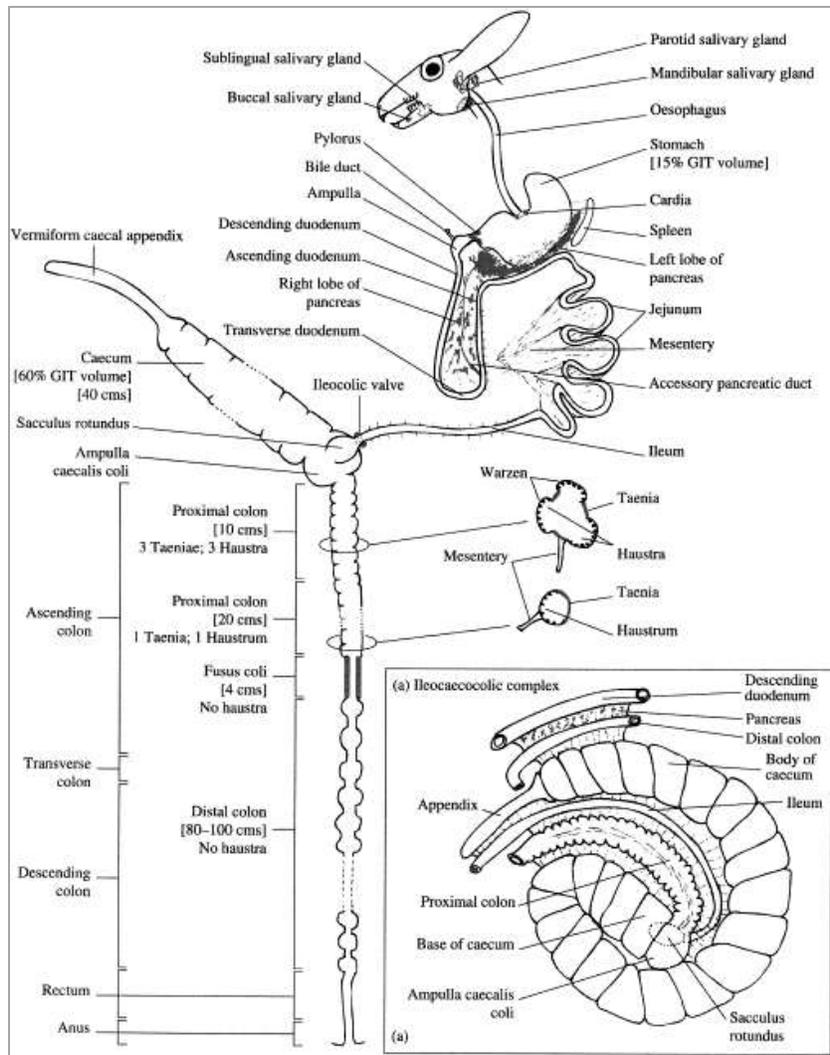
### **2.1 Fisiología del sistema digestivo del conejo**

Las poblaciones microbianas residentes en el tracto gastrointestinal de los animales constituyen la microbiota que es un ecosistema complejo, capaz de autorregular la

homeostasis e importante en procesos metabólicos, nutricionales, fisiológicos e inmunológicos (Velasco – Galilea *et al.*, 2018)

Los conejos son herbívoros, selectores de concentrados y se les clasifica como fermentadores del intestino posterior (ciego y colon), debido a que no hay enzimas que degraden componentes de celulosa de las dietas, durante la fermentación microbiológica en condiciones intestinales favorables, los conejos reciben productos que estimulan la colonización por microorganismos simbióticos, conocido como modelo combinado de competencia y cooperación del microbioma intestinal, los cuales se encuentran en todo el tracto gastrointestinal formando unidades ecológicas que comprende Bacteroides, protozoos ciliados y flagelados y hongos anaeróbicos; su sistema permite una ingesta de grandes volúmenes de alimento, separar componentes de alta digestibilidad en el contenido intestinal, eliminar desechos fibrosos de fermentación lenta, lo que limita la necesidad de tener una gran área de absorción en el intestino grueso, esto a través de separar completamente los productos de la fermentación cecal y de heces, permitiendo la reingestión y la absorción, por lo que se considera un órgano metabólicamente adaptable y renovable, que desempeña un importante papel en el estado nutricional, fisiológico, inmunológico, homeostático y también en la productividad de los animales de granja (Irlbeck, 2001; Davies y Davies, 2003; Fang *et al.*, 2019; Wlazło *et al.*, 2021).

El aparato digestivo del conejo (Figura. 1) está integrado por órganos que en su conjunto ejercen la función digestiva, el volumen del ciego y colon aumenta linealmente hasta convertirse en el mayor compartimento digestivo entre 5a y 6a semanas de edad (40% del volumen digestivo total) y a la semana 9 se encuentra desarrollado casi en su totalidad, presentando hasta entonces un coeficiente de alometría superior a 1 y hasta un 80% de la ingesta está contenida en el estómago y ciego (Lebas, 1983; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002).



**Figura 1.** Anatomía del tracto gastrointestinal del conejo. (Tomado de Davies y Davies, 2003).

## Boca

La abertura de la boca es pequeña, el labio leporino superior continúa curvándose de derecha a izquierda hacia las fosas nasales, en el lado interior de cada fosa nasal hay un margen foliado que cubre una almohadilla sensoria que le permite al conejo ubicarse y comer pastos cortos (Brewer, 2005).

Cuando el alimento ingresa es triturado por los dientes de las mejillas (premolares y molares) y con movimientos coordinados con la lengua se lleva a cabo la masticación, este

proceso se divide en acciones de tipo I en las que se involucran los incisivos para realizar cortes, tipo II masticación y trituración de los alimentos y reducción del pasto de tallos largos a partículas más cortas y tipo III son las que intervienen en la formación del bolo alimenticio listo para tragar; para el caso de los cecotrofos no se presentan las acciones masticatorias, se ingieren intactos (Davies y Davies, 2003).

Las glándulas salivales son consideradas como parte del tracto gastrointestinal superior de secreción exocrina, también existen glándulas salivales diseminadas en la mucosa labial, paladar duro, paladar blando y mucosa lingual, además de las tres glándulas salivales principales que se encuentran en los mamíferos (parótida, mandibular y sublingual), los conejos también tienen una glándula cigomática (Lossi *et al.*, 2016), la amilasa y galactosidasa se producen en la saliva, la cual prepara el alimento para la digestión, que tiene lugar en los siguientes segmentos del tracto digestivo (faringe, esófago y estómago en donde comienza la digestión, avanzando hacia el intestino delgado y grueso) secretada continuamente por las glándulas mandibulares y en respuesta a la ingesta de alimentos, la lipasa y la urea solo están presentes en cantidades mínimas en la saliva de conejo, los iones de potasio y bicarbonato también son componentes importantes (Davies y Davies, 2003; Matosz *et al.*, 2017).

## **Estómago**

En la 1ª semana de vida la pared del estómago segrega una pepsina cuyo pH se encuentra entre 1.8 a 2.4 y otra peptidasa, renina o quimosina, con pH de 3.4 a 3.8 y a partir del día 21 el pH de la pepsina desciende a 1.2 a 1.8, y la renina ya no es detectable en el conejo de 45 a 60 días; a partir de la 2ª semana el microbioma del estómago aumenta, se considera que el conejo come sus propios cecotrofos que contienen de 107 a 109 bacterias por g; la importancia del pH gástrico es porque influye en la actividad enzimática de la amilasa salival y enzimas proteolíticas del jugo gástrico, así como en la solubilización y digestión de minerales, la secreción de ácido clorhídrico comienza a los 16 días de edad y se establece completamente a los 30 días, después de lo cual el pH gástrico no cambia (Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002).

Una vez que el alimento llega al estómago, permanece algunas horas (de tres a seis), experimentando pocos cambios químicos, al ser el primer compartimento importante del sistema, contiene un pH, que varía de 1 a 5, dependiendo del sitio (Carabaño *et al.*, 2010), comprende el 15% del volumen del tracto gastrointestinal, presenta un esfínter cardíaco desarrollado que impide el vómito, la porción cardíaca del estómago por lo general no se encuentra vacío, se ha demostrado que después de un ayuno de 24 horas, en conejo adulto aún está lleno al 50%, generalmente con una masa de alimento y pelo rodeado de líquido, después de la cecotrofia, la región fúndica del estómago actúa como una cavidad de almacenamiento para los cecótrofos, el fundus es la mayor parte secretora del estómago, que contiene células parietales (secretan ácido clorhídrico y factor intrínseco) y células pépticas (secretan pepsinógeno, precursor de pepsina), en cuanto a la región pilórica tiene una pared muscular mucho más gruesa (Davies y Davies, 2003).

### **Intestino delgado**

Representa aproximadamente el 12% del volumen gastrointestinal, el intestino delgado adyacente es de aproximadamente 3 m de largo y de 0.8 a 1 cm de diámetro, termina en la base del ciego, el apéndice cecal tiene un diámetro de 10 a 12 cm, sus paredes están compuestas por tejidos linfáticos, el conducto biliar entra en duodeno proximal, el lóbulo derecho del páncreas se sitúa en mesoduodeno del bucle duodenal y el lóbulo izquierdo entre el estómago y colon transversal, en esta porción duodenal los iones bicarbonato se secretan para neutralizar la acidez del quimo que pasa del estómago, parte de la digestión de carbohidratos y proteínas simples tiene lugar en duodeno y yeyuno, que es la sección más larga del intestino delgado y aparece enroscada, también se encuentran las placas de Peyers, los productos de la digestión de monosacáridos y aminoácidos se absorben a través del borde del cepillo yeyunal, incluyendo la digestión y absorción del material cecótrofo, ácidos grasos volátiles, vitaminas y organismos microbianos digeridos; el íleon regula y recicla electrolitos secretados por el estómago, presenta un agrandamiento esférico de paredes gruesas conocido como sacculus rotundus, marcando la unión entre íleon, ciego y colon (Lebas *et al.*, 1997; Davies y Davies, 2003; Johnson–Delaney, 2006).

El colon también es llamado "amígdala cecal" debido a su tejido linfoide y su composición de macrófagos, es un órgano exclusivo de los conejos y la válvula ileocólica controla el movimiento de ingesta desde el íleon al sacculus, evitando el movimiento inverso de ingesta hacia el íleon (Johnson–Delaney y Orosz, 2009).

## **Intestino Grueso**

### **Ciego**

Es el principal sitio de fermentación y es un órgano que ocupa entre 40–60% del volumen total del tracto gastrointestinal, los subproductos de la fermentación cecal (cecotrofos) aportan aproximadamente el 83% de niacina, 100% riboflavina, 165% ácido pantoténico, 42% cianocobalamina (vitamina B12) y 40% de energía requerida para su mantenimiento, la proteína microbiana sintetizada representa el 10% de la ingesta diaria total de proteínas, este contenido se ve reforzado por la absorción de urea en el ciego desde la sangre, seguida de la síntesis de ácidos amónicos a partir de urea por microorganismos, otro punto importante es el pH, durante las etapas de crecimiento presenta cambios y al destetes se encuentra más ácido (5.4–6.3) que en adultos (5.9–6.8), variaciones que ocasionan cambios en el tipo de microorganismos que habitan en el ciego (Davies y Davies, 2003; Liu *et al.*, 2018).

Los microorganismos convierten los nutrientes provenientes del intestino delgado en ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, propiónico y butírico) derivados de sustancias no digeribles de los alimentos y son importantes como fuente de energía para procesos metabólicos como crecimiento y lipogénesis, también se producen gases como metano (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>), amoníaco y compuestos incorporados a las células microbianas (Hara, 2002; Belenguer *et al.*, 2011; Mišta *et al.*, 2015).

El hidrógeno se forma durante la fermentación y su presión parcial debe mantenerse baja para mantener una fermentación anaeróbica optima, de lo contrario algunos ecosistemas anaerobios reducen la eficiencia de la fermentación, existen vías para la eliminar o reducir el hidrógeno (H<sub>2</sub>) en tracto gastrointestinal, siendo la metanogénesis y acetogénesis las más importantes, por la competencia de absorción de H<sub>2</sub> molecular entre Arqueas metanogénicas y bacterias acetogénicas, las recuperaciones de hidrógeno estimadas para el

metano son 24.7%, la proporción de producción de acetato a propionato es mayor en el ciego del conejo en comparación con el rumen (17.8 vs. 2.81), esto puede ser a que la acetogénesis reductora es la vía de hidrogenisposición dominante en el ciego de los conejos y por lo tanto, los acetógenos que son más eficientes en la fermentación en el ciego del conejo (Belenguer *et al.*, 2011; Abecia *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2016).

La población más abundante de microbiota del ciego en conejo es Firmicutes en los adultos (75.85%) que en conejos al destete (55.38%), seguida con disminución de Bacteroides los cuales son importantes en conejos jóvenes ya que pueden descomponer polisacáridos y proteínas en la leche materna y de la dieta, facilitando el desarrollo del sistema inmunológico intestinal (Zhu *et al.*, 2015; Fang *et al.*, 2020) y junto con Fibrobacteres son capaces de digerir almidón y carbohidratos vegetales como pectina, xilano, celulosa y compuestos de hemicelulosa (Dearing y Kohl, 2017), el filo Verrucomicrobia al cual pertenece la bacteria *Akkermansia muciniphila* degrada mucina, lo que podría mejorar la extracción de nutrientes durante la cecotrofia en conejos destetados, sin embargo, su sobrecrecimiento en conejos en fase de engorde está estrechamente relacionado con la incidencia de enteropatía epizootica (Fang *et al.*, 2019; Fang *et al.*, 2020).

El ciego del conejo es más grande en comparación con el resto del intestino, forma una espiral que llena la cavidad abdominal, no fermenta por completo la fibra, sino que utiliza un mecanismo para clasificar la fibra no digerible y expulsarla del cuerpo, es un proceso de alimentación especializada que supera la proteína de baja calidad, está clasificación ocurre cuando la digesta ingresa al intestino grueso del conejo y las contracciones musculares facilitan la separación de partículas en la válvula ileocecal y sacculus rotundus permitiendo la entrada al área de fermentación del agua, sustancias solubles y partículas finas (<0.3 mm de diámetro) y por ondas peristálticas mueven la fibra a través del colon y durante la formación de heces duras o diurnas las partículas finas y las sustancias solubles en agua, junto con los microorganismos, son devueltas al ciego a través de movimientos antiperistálticos y flujo retrógrado que se produce en el colon proximal, las partículas grandes que forman las heces duras pasan a la zona distal y ocurre aproximadamente 4 horas postprandial (Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002; De Blas, 2013).

Posterior a la fermentación de componentes no fibrosos se forman gránulos llamados cecotropos que se originan directamente del contenido cecal y contienen altas concentraciones de nitrógeno, proteínas, minerales y vitaminas, formándose así heces blandas o nocturnas (cecotrofos) que se eliminan del cuerpo de 8 a 10 horas postprandial y son como un racimo rodeado por lisozima y una membrana mucilaginosa, que se consumen directamente del ano como respuesta a una serie de factores en las que se incluye la estimulación de mecanorreceptores rectales, estímulos olfatorios, concentraciones sanguíneas de metabolitos y hormonas y luego continúan fermentando el estómago durante varias horas (Davies y Davies, 2003; Irlbeck, 2001; Mišta *et al.*, 2015).

Hasta antes del proceso de cecotrofia, el funcionamiento del tracto digestivo del conejo es similar al de otros animales monogástricos, su singularidad reside en la doble función del colon proximal, si el contenido de ciego ingresa al colon en la parte temprana de la mañana, experimentará pocos cambios bioquímicos, una vez que se lleva a cabo la cecotrofia es que se puede reutilizar parte de los productos finales de la fermentación cecal y permite aumentar la digestibilidad de la proteína cruda (especialmente en dietas que contienen una alta proporción de proteína insoluble de NDF: Fibra Detergente Neutra) así como reducir la excreción de nitrógeno del estiércol, la cantidad de nutrientes reciclados dependerá de los factores que afectan la eficiencia de la digestión de la fibra en el ciego, este comportamiento comienza aproximadamente a las 3 semanas de edad, cuando los animales inicia con la ingesta de sólidos además de la leche materna (Ruckebusch y Hörnicke, 1977; Lebas *et al.*, 1997; Gidenne y Fortun-Lamothe, 2002; De Blas, 2013).

Las heces blandas, se reingestan como una forma de reciclar la proteína de origen microbiano (Abecia *et al.*, 2005), es la mayor parte de los cecótrofos de nitrógeno (N), el cual se metaboliza en un proceso fisiológico denominado reciclaje de N, en el que azúcares no digeribles estimulan el movimiento de la urea sanguínea al ciego para utilizarse como fuente de N, elevando la proteína bacteriana en heces blandas y proporcionando hasta un 30% de la ingesta diaria de N y también se incluye proteína dietética que se escapó de la digestión en el intestino delgado, proteínas endógenas secretadas por el páncreas, células de la mucosa que se desprenden de la pared intestinal, la urea sanguínea que se difunde a través del intestino con movimientos de agua y las bacterias intestinales (Xiao *et al.*, 2015).

El comportamiento de la cecotrofia comienza alrededor de los 25 días de edad, cuando se produce una ingesta significativa de alimento seco que conduce al llenado tanto del ciego como del colon, los gránulos duros se anulan, pero el conejo recupera los gránulos blandos directamente del ano y los ingiere sin ser masticadas, de tal manera que al final de la mañana, hay una gran cantidad de estos gránulos dentro del estómago, donde pueden abarcar las tres cuartas partes del contenido total, esto hace que la cecotrofia sea diferente de la coprofagia (Gidenne *et al.*, 2010).

## **2.2 Función y Diversidad de la microbiota gastrointestinal del conejo**

La microbiota está integrada por microorganismos especializados, que conviven pacíficamente y en equilibrio para mantener la integridad del tracto gastrointestinal (TGI), debido a que su actividad metabólica se relaciona con la salud o enfermedad del individuo, por lo tanto, las bacterias residentes ejercen una doble función como estimulantes de los mecanismos de defensa de la mucosa y del mantenimiento de la homeostasis de la respuesta inmunitaria (Sugiharto, 2016), además el TGI es el órgano más colonizado, lo que representa una superficie importante y rica en moléculas para un gran número de como bacterias heterogéneas que contribuyen a la salud y enfermedad intestinal (Bagóné Vántus *et al.*, 2018).

El equilibrio está a cargo del tejido linfoide, lugar en donde se llevan a cabo las interacción entre las bacterias intestinales y el sistema inmunológico como el tejido linfoide asociado al intestino (GALT) y tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) (Bagóné Vántus, *et al.*, 2014) así como de componentes de la dieta y mucosa (epitelio digestivo y GALT) que cubre el epitelio al forma una barrera física que mantiene la microbiota en el lado luminal, también se compone de mucina, glicoproteínas, péptidos y fosfolípidos surfactantes, importantes al fungir como barrera protectora contra los microorganismos patógenos y también por la microbiota, que en su conjunto interactúan entre sí formando un equilibrio dinámico que garantiza el funcionamiento eficiente del sistema digestivo (Montagne *et al.*, 2003; Lustrì *et al.*, 2017).

La comunidad microbiana intestinal, es abundante, al consistir aproximadamente de 100 a 1000 billones de microorganismos por gramo de digesta, su diversidad y complejidad es

muy alta, con cerca de mil especies diferentes y en conejos hay una microbiota abundante (1010 a 1012 bacterias/g) presente en todo el ciego – colon e íleon, donde su abundancia es menor (106 a 108 bacterias/g), así como en heces duras y blandas (Combes *et al.*, 2012), entre las especies bacterianas cecales y colónicas predominantes pertenecen al género *Bacteroides* (109–1010 contenido de bacterias digestivas g<sup>-1</sup>), la comunidad bacteriana celulolítica aparece aproximadamente a la 2ª semana después del nacimiento y esta predomina por *Eubacterium cellulosolvens* y *Bacteroides spp* (Bennegadi *et al.*, 2003), *Fibrobacter succinogenes*, *Fibrobacter intestinalis*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*, *Firmicutes phylum*, *Lachnospiraceae* y arqueas con predominio del género *Methanobrevibacter* (Combes *et al.*, 2013), la maduración del ecosistema microbiano cecal evoluciona según la edad del conejo y a los 70 días aproximadamente, la composición de la microbiota cecal es homogénea y muestra cierto grado de estabilidad (Wlazło *et al.*, 2021).

Se ha demostrado que el equilibrio o regulación e incluso aumento del microbioma intestinal puede tener beneficios en la salud, pero puede verse afectada por factores, de dieta, ambiente, edad, bacterias patógenas y algunos xenobióticos (Li *et al.*, 2018), por lo que un enfoque prometedor es manipular la microbiota del intestino para optimizar la salud del conejo modificando los componentes nutricionales del alimento y así mejorar la eficiencia digestiva y estimular los procesos inmunológicos, lo que probablemente significaría aumento en la rentabilidad de la producción (Wlazło *et al.*, 2021).

Si bien en un inicio los aditivos de mayor empleo en producción animal como promotores de fueron los antibióticos, debido a su incremento masivo e indiscriminado para obtener mayor producción de alimentos, ocasionó la selección de material genético que codifica resistencia bacteriana, cepas patógenas zoonóticas o comensales, representando un peligro en salud pública, por transferencia de contacto directo, indirecto o, a través de la cadena alimenticia, esta situación llevó a la búsqueda practica de nuevas alternativas de aditivos alimentarios que promuevan el crecimiento de los animales sin efectos ocasionar efectos secundarios negativos, a través de modular la accesibilidad del material nutritivo en el alimento y que presenten una influencia benéfica sobre la microbiota intestinal, así como finalmente reducir los costos de alimentación, entre estos sustitutos a aditivos sintéticos se encuentran probióticos, prebióticos, enzimas, acidulantes, enzimas (Lhermie *et al.*, 2017;

Lipiński *et al.*, 2019; El-Hack *et al.*, 2020), especias y hierbas que representan aditivos alimentarios fitogénicos (Reda *et al.*, 2020) o también denominados aditivos Fitobióticos o Fitoaditivos (Madhupriya *et al.*, 2018). Algunos resultados de investigaciones sobre el uso de aditivos alimentarios considerados como fitogénicos en producción animal se presentan en el Cuadro 1.

### **2.3 Nutraceúticos utilizados en producción animal**

Las hierbas o material vegetal (fitoquímicos, vitaminas), son considerados nutraceuticos por contener compuestos bioactivos estructural (principalmente fenilpropanoides y terpenoides) y funcionalmente diversos que ejercen beneficios medicinales o fisiológicos a largo plazo y en su mayoría presentan efecto antioxidante, conservante y estabilizador que al emplearse en nutrición animal, pueden brindar beneficios como modificar características sensoriales de los alimentos brindando aromas y sabores palatables únicos, también pueden funcionar como promotores de crecimiento y salud, antivirales, antihelmínticas, incluso para mejorar características sensoriales y extender la vida útil de los alimentos, así como para prevenir enfermedades asociadas al envejecimiento, estrés oxidativo, inflamación, enfermedades gastrointestinales, cardiovasculares, diabetes, cáncer en humanos (Velasco y Williams, 2011; Waszkiewicz–Robak *et al.*, 2017; Stefańska *et al.*, 2021).

Entre las principales razones de emplear plantas, hierbas, aceites esenciales o extractos en la alimentación de animales en producción es gracias a que contienen una gran variedad de metabolitos secundarios (Salajegheh *et al.*, 2018) de los cuales se han reportado diferentes funciones como agentes antimicrobianos, antiparasitarios, antioxidantes, inmunoestimulantes (Syahidah *et al.*, 2015), antifúngicos, antiinflamatorios, antiulcerosos, antivirales, anticancerígenos y como estimulantes el apetito y promotores del crecimiento (Dalle Zotte *et al.*, 2016), al actuar sobre el metabolismo del microbioma intestinal inhibiendo la replicación de microorganismos patógenos específicos, así como también estimular la producción de enzimas digestivas endógenas, que benefician la salud (Soliman *et al.*, 2017; Razo–Ortiz *et al.*, 2020).

**Cuadro 1.** Efecto del uso de aditivos alimentarios fitogénicos en producción animal.

<b>Aditivo</b>	<b>Referencia</b>	<b>Dosis</b>	<b>Respuestas</b>
Vitamina E	Abd Allah <i>et al</i> , (2020)	250 mg kg <sup>-1</sup>	Mejoró peso final, ganancia diaria de peso y eficiencia económica.
<i>Moringa olifera</i> <i>Prosopis chilensis</i>	Abdallah y Ebrahiem, (2020)	Pastoreo (consumo <i>ad libitum</i> )	Mejoró ganancia diaria de peso con moringa.
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Alagawany <i>et al</i> , (2019)	0.1, 0.2 y 0.3 g/L	Redujo el colesterol total en suero, mejoro ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia.
Colina	Alagawany <i>et al</i> ., 2015	0.0, 1000, 1500, 2000 y 2500 mg kg <sup>-1</sup>	Generó mayor ganancia de peso y conversión alimenticia.
<i>Trachyspermum ammi</i>	Ali <i>et al</i> , (2018)	1 y 5 %	Mejoró crecimiento, actividad lisozima y RS.
Neem ( <i>Azadirachta indica</i> ) Tulsi ( <i>Ocimum sanctum</i> )	Arshad <i>et al</i> , (2021)	0.5, 1% y 0.5+1%	Mejoraron peso corporal, la ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia. Presentaron efecto sobre glucosa, hemoglobina, leucocitos, MCH, colesterol total, colesterol HDL, LDL y proteína total.
<i>Zingiber officinale</i> Vitamina E	Asker <i>et al</i> , (2021)	0.0, 10, 15 y 20 g 500 mg Tres veces por semana	Disminuyeron los niveles de cortisol y aumentaron los de Adenosina Desaminasa y de las enzimas GPT, GOT y GGT.
<i>Achyranthes aspera</i>	Athesh <i>et al</i> , (2020)	100, 200 y 300 mg/kg/peso corporal	Reducción de peso corporal en animales obesos, niveles elevados de glucosa, insulina, leptina, perfiles de lípidos y estado antioxidante se normalizaron.
<i>Azadirachta indica</i>	Borkotoky y Banerjee, (2020)	Modelo 3D para SARS-CoV-2 M	Los compuestos mostraron unión e interacciones estables en regiones E y M requeridas para el ensamblaje.
<i>Emblica officinalis</i> Gaertn <i>Terminalia bellirica</i> Gaertn <i>Terminalia chebula</i>	Bostami <i>et al</i> , (2021)	(0.5% kg <sup>-1</sup> ) + 0.1% en el agua	Mejoraron ganancia de peso y relación ganancia–alimento, inhibió <i>E. coli</i> fecal, así como digestibilidad de materia seca, mientras que la digestibilidad de proteína cruda disminuyó.

Retz				
Aditivo a base de hierbas (ajo, cebolla, hinojo, genciana, melisa, menta, anís, clavo, corteza de roble)	Celia <i>et al</i> , (2016)	300 mg kg <sup>-1</sup>		Mayor consumo de alimento, digestibilidad proteica y energía digestible y mejor conversión alimenticia.
Extracto en polvo de polifenoles (aceite de oliva)	Cimmino <i>et al</i> , (2018)	3.2 mg/día		Disminución de cadenas cortas de ácidos grasos, menor formación de malondialdehído, proporcionando mayor estabilidad de las carnes y conservar características de calidad en almacenamiento.
<i>Camelina sativa</i>	Ebeid <i>et al</i> , (2020)	0, 2, 4, 6 y 8% kg <sup>-1</sup>		Disminuyó la producción de CH <sub>4</sub> al modificar la población de bacterias, protozoos y metanógenos, aumentaron los niveles de propionato y se disminuyó CO.
<i>Spirulina platensis</i> Vitamina E	El-Ratel <i>et al</i> , (2019)	300 mg kg <sup>-1</sup> 100 mg kg <sup>-1</sup>		Mejoró desempeño reproductivo, lípidos totales, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta y baja densidad, capacidad antioxidante (glutación peroxidasa, glutación S-transferasa, superóxido dismutasa y catalasa) así como inmunidad (lisozima, IgG e IgM).
Poliherbal ( <i>Achyranthes aspera</i> , <i>Trachyspermum ammi</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> , <i>Andrographis paniculata</i> y <i>Azadirachta indica</i> )	Galván <i>et al</i> , (2020)	0, 3, 4 y 5 g/d		Aumentó de IgG, modificación de la biosíntesis de O-Glicano de tipo mucina y la red inmune intestinal para la producción de IgA. Se enriquecieron vías proteicas que interactúan con receptores de estrógenos, señalización de hormona tiroidea, contracción de músculo liso, función de ribosoma y sinapsis glutamatérgica.
Mezcla fitogénica (hinojo, ajwain, jengibre, <i>Swertia hirata</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> , cúrcuma, fenogreco, <i>Terminalia chebula</i> , regaliz y <i>Phyllanthus emblica</i> )	Hassan <i>et al</i> , (2020)	0, 15, 25, y 35 g <sup>-1</sup>		Aumentó: de pH ruminal, ácidos grasos en leche, bacterias <i>Firmicutes</i> , <i>Proteobacteria</i> , pero disminuyó Bacteroidetes y del género dominante <i>Prevotella</i> disminuyó y aumentaron <i>Pseudobutyrvibrio</i> , <i>Butyrvibrio</i> y <i>Succinivibrionaceae</i> .
Neem Tulsi	Hossain <i>et al</i> , (2021)	3%		Se mejoro peso corporal y eficiencia alimenticia.

<i>Phyllanthus emblica</i>	Huang <i>et al.</i> , (2017)	125, 250 y 500 mg kg de peso corporal	Disminuyó peso corporal, grasa peritoneal y del epidídimo, mejoró las actividades enzimáticas antioxidantes y la esteatosis (elevación de adiponectina en los adipocitos y PPAR- $\alpha$ en hígado).
<i>Citrullus colocynthis</i>	Hundal <i>et al.</i> , (2020)	Pulpa y cáscara 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 4.0%	Mejoraron disponibilidad de Fibra Detergente Neutro y Energía Metabolizable, se observó disminución en la producción de ácidos grasos totales, la concentración de acetato, propionato y butirato.
<i>Detarium microcarpum</i>	Jiya <i>et al.</i> , (2015)	25, 50, 75 y 100%	Disminución en ácidos grasos saturados.
<i>Trachyspermum ammi</i>	Kala <i>et al.</i> , (2020)	0.75 y 1.5 ml/100 kg de peso corporal	Mitigación de metano del ganado, mejoró digestibilidad del alimento sin modificar la fermentación microbiana del rumen. y perfil microbiano.
<i>Phyllanthus emblica</i>	Khan <i>et al.</i> , (2018)	1500 mg/5 ml de solución salina normal. Infusión intramamaria/animal	Se presentó mejoría en la tasa de curación bacteriológica con 64.7% en búfalas con mastitis.
Colina y lectina	Khosravinia <i>et al.</i> , (2015)	colina (1 g kg <sup>-1</sup> ) y lectina (0.5 g kg <sup>-1</sup> )	Disminución de las concentraciones séricas de AST.
Colina	Li <i>et al.</i> , (2015)	0.0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% kg <sup>-1</sup>	Mejoró ganancia de peso, en músculo <i>Longissimus dorsi</i> disminuyeron concentraciones de lipoproteínas de alta densidad y lipoproteínas de baja densidad aumentaron, así como las expresiones de lipoproteína lipasa (LPL) y los genes FASN, también se disminuyó la expresión del gen ACC.
Hoja de morera	Li <i>et al.</i> , (2020)	0, 15, 30 y 45 g/d	Disminución de malondialdehído (MDA) y antioxidantes totales, aumento de proteínas séricas de choque térmico (HSP) y glutatión peroxidasa (GHS-Px) todo medido en suero. Aumento en hormonas GH, PRL y E2.
Acetato de DL- $\alpha$ -	Maiorano <i>et al.</i> ,	150 U/semana	Mejoró durante la lactancia el promedio de ganancia diaria de

tocoferilo	(2007)		peso, aumentó pH en músculo <i>Longissimus</i> , la concentración de reticulación de hidroxilisilpiridinolina y madurez de colágeno intramuscular.
DL- $\alpha$ -tocoferol	Minardi <i>et al</i> , (2020)	100 y 200 mg kg <sup>-1</sup>	No se presentó efecto en parámetros productivos, características de la canal o calidad de carne, así como tampoco en contenido lipídico y ácidos grasos en músculo <i>Longissimus lumborum</i> y <i>Biceps femoris</i> .
Mezcla herbal (menta, tomillo, romero y clavo)	Neubauer <i>et al</i> , (2018)	3 g/vaca/día	Disminución del pH ruminal, modificación microbioma del rumen.
Mezcla poloharbal ( <i>Withania somnifer</i> , <i>Ocimum sanctum</i> , <i>Tinospora cordifolia</i> y <i>Emblica officinalis</i> )	Ortega-Álvarez <i>et al</i> , (2020)	0.0, 0.5 y 1.0	Se mejoró conversión alimenticia y ganancia de peso.
Aceites esenciales ( <i>Origanum vulgare</i> , <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Salvia officinalis</i> y <i>Thymus vulgaris</i> )	Pesavento <i>et al</i> , (2015)	25%, 50%, 75%, 100% v/v	Inhibió el crecimiento de bacterias patógenas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> .
Mezcla de hierbas ( <i>Fumaria officinalis</i> L., <i>Malva sylvestris</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L. y <i>Matricaria chamomilla</i> L.)	Petrič <i>et al</i> , (2021)	Mezcla herbal (MH)100 g MS/d MH + 70 mg Zn/dieta	Infiltración mixta focal de células inflamatoria en rumen y población bacteriana ruminal total más bajas en dieta con Zn y MH.
<i>Citrus sinensis</i>	Pourhossein <i>et al</i> , 2014	1000 y1250 ppm	Fueron mayores los títulos de anticuerpos a los glóbulos rojos, aumentaron las IgG e IgM y la respuesta del título de anticuerpos se elevaron.
Compuestos fitogénicos	Reyes-Camacho <i>et al</i> , (2020)	1 g kg <sup>-1</sup>	Aumentó número de lechones vivos, proteína del calostro y grasa de la leche. Actividad inhibidora contra <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . Modificó enzimas superóxido dismutasa y catalasa en cerdas y crías, así como la

				sobreexpresión de la función de barrera <i>MUC2</i> relacionado a la salud intestinal.
Conjugados de colina	Rodríguez–Guerrero <i>et al</i> , (2018)	0 y 4g día y metionina con 0 y 1.5g/día		Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) aumentaron, así como un incrementó en glucosa y colesterol.
Licopeno	Sahin <i>et al</i> , (2006)	100 mg/kg dieta		Aumentaron los niveles séricos y yema de huevo de Vitamina E y A, disminuyo la concentración de colesterol y disminuyeron los niveles de MDA en hígado y suero.
DI- $\alpha$ -tocoferil–acetato		250 mg/kg dieta		
Fórmula polihierbal ( <i>Acacia nilotica</i> y <i>Curcuma longa</i> )	Selvam <i>et al</i> , (2018)	0.0, 500 y 1000g/tonelada de alimento		Mejoró conversión alimenticia.
Acetato de $\alpha$ -tocoferol	Shah <i>et al.</i> , 2016	50, 100 y 150 mg/kg		Las concentraciones séricas de superóxido y glutatión peroxidasa, aumentaron y concentración de alanina transaminasa se redujo.
<i>Achyranthes aspera</i>	Sharma <i>et al</i> , (2019)	0.5% de hojas 0.5% de semillas		Mayor peso corporal y eficiencia alimenticia en animales alimentados con hojas, niveles séricos de lisozima, mieloperoxidasa y óxido nítrico sintasa, regulación positiva de lisozima C, lisozima G y factor de necrosis tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ).
<i>Ocimum sanctum</i> (Tulsi)	Sikotariya y Yusufzai, (2019)	5, 10, 20 y 50 g kg <sup>-1</sup>		Aumentó tasa de crecimiento, índice de eficiencia proteica y supervivencia.
Vitamina E y Compuesto fitogénicos	Silva–Guillen <i>et al</i> , (2020)	100 UI/L de RRR- $\alpha$ -tocoferol 60 y 30 $\mu$ L/L/día		No se observaron efectos sobre rendimiento productivo, estrés oxidativo o concentraciones de citocinas evaluadas.
<i>Lippia citriodora</i> <i>Raphanus sativus</i> <i>Solanum lycopersicum</i>	Vizzarri <i>et al</i> , (2017)	5 mg kg <sup>-1</sup> 5 mg kg <sup>-1</sup> 350 mg kg <sup>-1</sup>		En músculo <i>Longissimum lumborum</i> reducción de colesterol, ácidos grasos saturados y sustancias reactivas tiobarbitúricas, aumentó ácidos grasos poliinsaturados y alfa-tocoferol y retinol.
<i>Trachyspermum ammi</i>	Wadhwa y Bakshi, (2019)	0.05, 0.1, 0.15 y 0.2%		Disminuyó ácidos grasos volátiles totales e individuales, proporción de acetato a propionato y número de protozoos.

L-ascorbil-2-monofosfato	Yu <i>et al.</i> , (2020)	0.0, 50, 100, 200, 400, 600 y 800 mg kg <sup>-1</sup>	Mejoró los indicadores de ganancia de peso corporal, índice de eficiencia alimenticia y tasa de crecimiento. Aumentó recuento de glóbulos rojos, Ht, Hb, calcio plasmático y magnesio, disminuyeron proteínas totales, (GOT) y (GPT), así como la actividad de SOD, CAT, GSH y GST.
<i>Tithonia tubaeformis</i>	Zepeda-Bastida <i>et al.</i> , (2019)	<i>Ad libitum</i> con hoja, planta completa y tallo	Correlación positiva alta con canal caliente y peso vivo, piel, patas y circunferencia lumbar de la canal, mayor peso en riñones y grasa renal.

### 2.3.1 Metabolitos primarios y secundarios de las plantas

Al proceso metabólico de las plantas se le llama metabolitos y específicamente la célula vegetal produce dos tipos de metabolitos que son primarios y secundarios (Hashemi y Davoodi, 2011).

#### *Metabolitos primarios*

Estos deben ajustarse rápidamente al entorno para satisfacer las demandas metabólicas cambiantes y mantener la homeostasis, participan en el crecimiento, actividades metabólicas de carbohidratos, lípidos y azúcares, para lo cual utiliza metabolitos dinámicos que pueden regular flujos y direcciones de reacciones de la vía metabólica sin procesos que consuman mucho tiempo como la síntesis/degradación de proteínas y la modificación postraduccional de enzima, así como también responder a eventos ambientales repetidos, incluidos el ciclo día/noche, cambios de temperatura y humedad, también se encuentran los metabolitos secundarios considerados los productos finales del metabolismo primario y no participan en la actividad metabólica (Hashemi y Davoodi, 2011; Kumar *et al.*, 2015; Obata, 2019).

#### *Metabolitos secundarios*

Son un grupo extenso de compuestos con pesos moleculares pequeños, destinados como protectores contra insectos, microbios y herbívoros, además de adaptarse a condiciones ambientales adversas, asimismo juegan un papel importante como antibacterianos, antifúngicos, antivirales, herbicidas e insecticidas (Reddy *et al.*, 2020). También son llamados fitoquímicos e incluyen grupos y compuestos estructuralmente diferentes como polifenólicos (flavonoides, isoflavonoides, estilbenoides y curcuminoides), alcaloides, terpenoides (monoterpenos, diterpenos, tetraterpenos, politerpenos, compuestos esteroides saponinas, licopeno y sus carotenoides) y glucosinolatos y dentro de cada especie se producen variaciones en la composición y concentración de metabolitos especializados para su entorno (Liu *et al.*, 2017; Stefańska *et al.*, 2021).

Estos metabolitos secundarios en las plantas se encuentran como mezclas simples o complejas y existe una sinergia para su diversidad y defensa química (Dyer *et al.*, 2003) no son necesarios para que una célula (organismo) viva, pero juegan un papel en la interacción de la célula con su entorno, asegurando la existencia continua del organismo en sus ecosistemas, por lo tanto su principal función es de respuesta a ataque de patógenos, insectos y herbívoros u otros tipos de estrese como bióticos (bacterias, hongos, nematodos, insectos o pastoreo de animales) y abióticos (variación de temperaturas y humedad, lesiones o presencia de metales pesados), lo cual hace que se activen mecanismos de defensa que incluyen la inducción de la biosíntesis de metabolitos como fitoalexinas, respuestas hipersensibles y barreras estructurales, como la deposición de lignina en la pared celular. (Vasconsuelo y Boland, 2007; Pagare *et al.*, 2015).

### **2.3.2 Fitogénicos**

Los aditivos fitogénicos (también llamados fitobióticos o botánicos) son compuestos que se derivan de plantas e incorporan a la dieta de los animales con la intención de optimizar las propiedades de los alimentos y productividad, a través de aumentar la producción de enzimas digestivas del páncreas, mucosa intestinal y el flujo de bilis, resultando en una mayor digestibilidad, eliminar patógenos resistentes a lo largo del tracto gastrointestinal, lo que promueve mayor absorción y disponibilidad de nutrientes lo que resulta en un mejor rendimiento productivo, asimismo se les relacionan con mejorar la

calidad de los alimentos derivados de animales alimentados con ellos (Windisch *et al.*, 2007; Athanasiadou *et al.*, 2007; Muthusamy y Sankar, 2015; Madhupriya *et al.*, 2018).

A su vez se ha demostrado que sus moléculas activas (fitoquímicos–metabolitos secundarios) pueden activar la función inmunológica, mejorar el sabor de los alimentos, al observarse una mayor palatabilidad, además se les relaciona con efectos antioxidantes y conservadores al contribuir a la preservación de cualidades de las dietas y prevenir la liberación de olores desfavorables, lo cual sería otro beneficio, ya que se podrían remplazar antioxidantes sintéticos como la etoxiquina y el hidroxitolueno butilado, mismos que en muchos lugares están prohibidos debido a sus efectos cancerígenos además como ya se ha mencionado, los fitogénicos son reconocidos por promover actividades antivirales, antihelmínticas, antibacterianas, como potenciadores del crecimiento e inmunomoduladores (Upadhaya y Kim, 2017; Reda *et al.*, 2020; Silva-Guillen *et al.*, 2020).

Al comprender una amplia variedad de hierbas, especias y productos derivados (Windisch *et al.*, 2007), se han reportado en algunas investigaciones efectos beneficiosos disminuir el número de ooquistes en aves cuando son alimentadas con orégano (Mohiti–Asli y Ghanaatparast–Rashti, 2017), también, favorecen la estabilidad oxidativa del músculo y la carne (Dabbou *et al.*, 2018) y puede disminuir la concentración de colesterol (Abou–Elkhair *et al.*, 2018).

### **2.3.3 Compuestos fenólicos**

Los aditivos fitogénicos o fitobióticos alimentarios son compuestos derivados de plantas incorporados a las dietas de los animales de producción para mejorar productividad y calidad de alimentos derivados de esos animales, su clasificación se basa con respecto a sus esqueletos de carbono básicos (un solo anillo de benceno); un anillo con una cadena de carbono unida que contiene de uno a cuatro o siete átomos de carbono (clase C6-Cn) o un esqueleto en el que la cadena de carbono se une a un segundo anillo de benceno (clase C6-Cn-C6) a su origen y procesamiento, por lo tanto pueden encontrarse como hierbas (plantas con flor, no leñosas y no persistentes), especias (hierbas con olor o sabor intenso), aceites esenciales (compuestos lipófilos volátiles derivados de la expresión en frío y/o destilación al vapor o alcohol) u oleorresinas (extractos derivados de solventes no acuosos) y el

contenido de sustancias activas en los productos varía de acuerdo a la parte de la planta utilizada (Windisch *et al.*, 2008; Sugiharto, 2016; Tsimogiannis y Vrieling, 2017), ya que estas pueden sintetizarse por todos los órganos de la planta, desde las flores, hojas, tallos, ramitas, semillas, frutos, raíces hasta la madera o corteza y se almacenan en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares y la calidad de sus compuestos también está determinado por la temporada de cosecha y el origen geográfico (Nieto, 2017).

Constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios, al presentar diversidad en sus estructuras, son responsables de las principales características organolépticas de alimentos y bebidas derivados de las plantas, en particular de las propiedades de sabor y color (carotenoides, derivados de tetrapireol) y contribuyen a las cualidades nutricionales de las frutas y verduras, gracias a su ingrediente nutraceutico activos que es el flavonoide que tienen la capacidad de actuar como antioxidante y quelantes de metales así como poseer actividades antiinflamatorias, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticancerígenas (Tapas *et al.*, 2008), por lo que de acuerdo a sus propósitos de uso, pueden agruparse como medicinal, ornamental, plantas aromáticas utilizadas como hierbas culinarias, verduras, industria del perfume (Naghibi *et al.*, 2010) y en la industria alimenticia para prevenir oxidación de lípidos que se asocia al color, así como para reducir crecimiento microbiano en la carne (Nieto *et al.*, 2010).

Por lo que a medida que el uso de la medicina herbal o ayurveda va creciendo, se ha buscado establecer características de fitoterapia y demostrar que ingredientes aislados, son eficiente y seguros, tal como ya se han reportado en algunos estudios, al evaluar de forma individual plantas, hierbas o especias, resultados que han servido para que en los últimos años se realicen investigaciones utilizando mezclas de diferentes fitogénicos en busca de una función sinérgica para mejorar los resultados de su inclusión en las dietas. (Williamson, 2001; Kholif *et al.*, 2020), en base a esto, es que desde hace varias décadas, se está evaluando el sinergismo de plantas seleccionas que no es más que las interacciones de sus metabolitos para aumentar el beneficio de su bioactividad a un costo menor (Liu *et al.*, 2017), como podría ser el caso de compuestos o mezclas herbales de BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y

*Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*).

#### **2.4 Conjugados de colina (BioCholine®)**

Esta fórmula comercial es de origen natural y se considera como fuente de fosfatidilcolina de baja higroscopicidad y se integra por las plantas *Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata* (Martínez-Aispuro *et al.*, 2019).

### **COLINA**

La colina el ión beta-hidroxietiltrimetilamonio, es una base fuerte que contiene un nitrógeno cuaternario trimetilado (Pinotti *et al.*, 2002), su fórmula química es  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , también llamada trimetil etanolamina, se sintetiza de forma endógena (Jayaprakash *et al.*, 2016), pertenece al grupo de la vitamina B, es utilizada para la síntesis de lipoproteínas (transporte de lípidos) y fosfolípidos (señalizador de membrana celular) de membrana como la fosfatidilcolina precursor del neurotransmisor acetilcolina (De Veth *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2018) que se sintetiza principalmente en neuronas colinérgicas, donde los receptores muscarínicos y nicotínicos activados desencadenan segundos mensajeros (Krzysztof Blusztajn y Mellott, 2012), recientemente, algunos estudios han identificado receptores colinérgicos muscarínicos y nicotínicos en células inmunitarias innatas y adaptativas de roedores y humanos (García *et al.*, 2018).

La oxidación mitocondrial de la colina forma betaína, además funciona como donante del grupo metilo (reducción de homocisteína) y es la principal fuente dietética de grupos metilo a través de la síntesis S-adenosilmetionina (AdoMet) del cual se han identificado al menos 50 reacciones dependientes de AdoMet, en mamíferos estas reacciones de metilación juegan un papel importante en la biosíntesis de lípidos, la regulación de vías metabólicas y desintoxicación en el cuerpo, también interviene en la metilación del ADN y las histonas, dos procesos epigenómicos centrales que regulan la expresión génica (Leeson y Summers, 2001; Zeisel y da Costa, 2009; Krzysztof Blusztajn y Mellott, 2012; Reddy, 2014) e influye

en procesos de señalización a través de segundos mensajeros de lípidos al desempeñar una biosíntesis de moléculas dependientes de la metilación, activación de receptores nucleares, circulación enterohepática de la bilis y colesterol, fluidez de la membrana plasmática y bioenergética mitocondrial y la colina se puede encontrar forma sintética o natural para ser utilizada (Corbin y Zeisel, 2012; Khose *et al.*, 2018).

En función a la importancia de colina en la dieta de animales de producción la suplementación está establecida para mejorar crecimiento, rendimiento de la canal y regulación del metabolismo lipídico entre otras (Khose *et al.*, 2018), en el caso particular del conejo NRC, (1977) sugiere 1200 mg d<sup>-1</sup>, cuando se presentan deficiencias se ha reportado daño renal, aumento de la sensibilidad a carcinógenos e inducción de lesiones neoplásicas (Vachhrajani *et al.*, 1993), hígado graso que surge de la acumulación hepática de triacilglicerol causada por una insuficiente de fosfatidilcolina (PC) para la síntesis y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (De Veth *et al.*, 2016), ya que puede afectar la integridad de la membrana del hepatocito y en consecuencia su pérdida, lo que además lleva a un aumento del nivel de enzimas hepáticas como la de alanina transaminasa (ALT) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH) de acuerdo a la información de Zöhrer *et al.*, (2017), también se presenta crecimiento retardado, anemia, distrofia muscular y muerte (Halls, 2010), así mismo conduce a niveles reducidos de fosfatidilcolina en la bilis, reducción de la secreción total de ácidos biliares y de colesterol (Pinotti *et al.*, 2002).

Mientras que al haber un exceso de colina en la dieta, esto puede afectar de manera negativa el rendimiento animal ya que al sobrepasar la capacidad de metabolizar la colina a nivel celular, podría resultar en la acumulación de fosfocolina y alterar el equilibrio iónico (Martínez–Aispuro *et al.*, 2019), también se ha propuesto que una ingesta alta de fosfatidilcolina (forma principal de colina), puede aumentar el riesgo de aterosclerosis debido a su conversión en N-óxido de trimetilamina (TMAO) derivada de trimetilamina por la enzima hepática monooxigenasas que contienen flavina (Aldana–Hernández *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021).

#### **2.4.1 Metabolismo y absorción de colina y biosíntesis de fosfatidilcolina**

Una vez que se absorbe por el intestino y es mediada por transportadores de colina, el destino principal de la colina es la conversión a fosfatidilcolina (también conocida como lecitina), presente en todas las células nucleadas y es el fosfolípido predominante (> 50%) en las membranas de los mamíferos (Zeisel y da Costa, 2009). En todas las células nucleadas de mamíferos, la PC es sintetizada por la vía de la colina (CDP) o también llamada vía de Kennedy, es decir, mediante el uso de ATP y trifosfato de citidina (CTP) y la fusión con diacilglicerol (DAG), que produce fosfatidilcolina, esta vía se activa cuando la colina de la dieta se transporta a través del borde del en cepillo hacia los enterocitos (van der Veen *et al.*, 2017; Krogdahl *et al.*, 2020).

La colina ingresa a la célula a través de tres clases de transportadores de colina: transportador de alta afinidad (CHT1), transportadores de afinidad intermedia (familia CTL) y transportadores de cationes orgánicos de baja afinidad (familia OCT), la fosfatidiletanolamina (PE) se convierte en PC mediante tres reacciones de metilación sucesivas catalizadas por la fosfatidiletanolamina N metiltransferasa (PEMT) utilizando S-adenosilmetionina como donante del grupo metilo, la actividad de PEMT se ha localizado en el ER y las membranas asociadas a las mitocondrias (MAM), la condición para las metilaciones es un suministro suficiente de metionina como donante de metilo, así como de las vitaminas B ácido fólico, cobalamina (B12), piridoxina (B6), niacina y taurina, necesarias para la remetilación de las moléculas donantes, la reacción catalizada por PEMT ocurre solo en los hepatocitos y el paso final de la vía es catalizado por la membrana integral del retículo endoplásmico (RE), proteína de especificidad dual, CDP etanolamina: 1,2-diacilglicerol colina/etanolamina fosfotransferasa (CEPT) que transfiere fosfoetanolamina a DAG para generar PE en el RE y la vía alternativa para la síntesis de PE, la vía de la fosfatidilserina (PS) descarboxilasa (PSD), se produce solo en las membranas internas mitocondriales, el PS se importa desde su sitio de síntesis en el RE/MAM a las membranas internas mitocondriales donde el PSD convierte el PS en PE (Zeisel y da Costa, 2009; van der Veen *et al.*, 2017; Krogdahl *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021).

## 2.4.2 Plantas que integran la mezcla herbal BioCholine ®:

### 2.4.2.1 *Trachyspermum ammi*

También conocida como (Ajwain, ajowan), planta perteneciente a la familia Apiaceae, entre sus propiedades se pueden mencionar que es carminativo, se utiliza como estimulante del apetito, presenta actividades antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante (Malik *et al.*, 2016; Ebrahimi *et al.*, 2018), diurética, analgésico y es eficaz contra enfermedades respiratorias y gastrointestinales (Moein *et al.*, 2015) es citotóxico de células tumorales e induce la proliferación de linfocitos, gracias a la presencia de compuestos bioactivos como el timol (67.4%), *p*-cimeno (17.9%), *c*-terpineno,  $\gamma$ -terpinene y  $\beta$ -pinene (11.3%) como los principales constituyentes, entre las bacterias más sensibles a los componentes de Ajwain se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* entre otros (Vitali *et al.*, 2016; Grădinaru *et al.*, 2018).

### 2.4.2.2 *Achyranthes aspera L*

Planta aromática, perteneciente a la familia Amaranthaceae, varias partes de la planta contienen compuestos bioactivos que incluye esteroides, alcaloides, taninos, saponinas A (ácido D-glucurónico y B ( $\beta$ -D-galactopiranosil del ácido D glucurónico), esteroides, glucósidos y flavonoides en sus raíces se puede encontrar ácido oleanólico, aminoácido, esteroides, alcaloides, triterpenoides, cumarinas, ecdisterona, ionokosterona, rubrosterona, oligosacáridos, polisacáridos, achyranthine, glicósidos, taninos, en semillas el ácido linoleico, oleico, palmitico, esteárico, behénico y en los brotes DihidroxifenpentaTriacontanol, 27-ciclohexil heptacosano 7-ol17-penta-triancontanol, 16-hidroxi-26-Metilheptacosano-2-1, los cuales pueden llegar a presentar efectos potenciales de astringencia, hepatoprotector, laxante, diurético, antiasmático, antialérgico, inmunoestimulante, antioxidante, hemolítico, antiinflamatorio, antibacteriano, antifúngico, larvicida, hipoglucemiante, hipolipidémico, estimulante cardíaco, lo que permite que sea una de las hierbas ayurvédicas más influyentes (Sivasankari *et al.*, 2017; Tripathy *et al.*, 2017; Lakshmi *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2019; Emon *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2021).

La parte de las hojas de *Achyranthes aspera* se determinaron 9– Octadecenamida, (Z) (21.15%), Escualeno (19.04%), Fitol (7.06%), fenol, 4,6–di (1,1dimetiletil) 2–metil– (6.50%), a–amirina (4.33%), ciclopropano, nonil– (3.37%), ftalato de dibutilo (3.19%) y con efecto inhibidor para el crecimiento de *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumonia* (Ganesh *et al.*, 2021).

#### 2.4.2.3 *Azadirachta indica*

Otros nombres con los se le conoce es neem, nim tree o margosa tree, es una especie de la familia Meliaceae, cada parte de este árbol tiene un complejo de varios constituyentes que incluyen nimbin, nimbidin, nimbolide y limonoids, tales ingredientes se han utilizado como remedio, para el manejo de enfermedades virales, bacterianas, fúngicas, así como actividad antiangiogénicas, antimetastásicas, antiinflamatoria, antiartrítico, antipirético, hipoglucémico, úlcera gástrica y antitumoral, estos efectos pueden atribuirse a mecanismos celulares y moleculares, en el que se incluyen eliminación de radicales libres, desintoxicación, reparación de ADN, alteración del ciclo celular, mitigación y autofagia de la muerte celular programada, vigilancia inmune, actividades inflamatorias y a la capacidad de modular de varias vías de señalización, entre los componentes químicos aislados se encuentran la quercetina y el  $\beta$ –sitosterol, polifenoles, flavonoides, azadiractina, 7–desacetil–7–benzoilazadiradiona, 17–hidroxiazadiradiona, 7–desacetil–7–benzoilgedunina, nimbina y nimbiol (Ahmed *et al.*, 2016; Alzohairy, 2016; Borkotoky y Banerjee, 2020; Islas *et al.*, 2020). En el último año se han realizado investigaciones de los compuestos de la planta Neem con acoplamiento y simulación para identificar inhibidores de moléculas contra las proteínas de membrana (M) y envoltorio (E) del SARS–CoV–2, esenciales para el ensamblaje y gemación del virus (Borkotoky y Banerjee, 2020).

#### 2.4.2.4 *Citrullus colocynthis*

Pertenece a la familia *Cucurbitaceae* y entre las plantas más importantes se encuentran el pepino, calabaza, manzana amarga y melón e incluye alrededor de 118 géneros y 825 especies, las frutas incluyen flavonoides glucósidos quercetina, flavona–3–glucósido, isovitexina, iso–orientina e iso–orientina–3–metil, colocynthoside A y B, 25–di–

O-beta-D-glycopyronasylcucurbitacin L, alcaloides, esteroides, en las semillas se encuentra ácido esteárico, mirístico, palmítico, oleico, linoleico y linolénico es rica en aminoácidos (lisina, leucina y metionina), vitamina B1, B2 y niacina, así como minerales (calcio, magnesio, potasio, hierro y manganeso) (Genwa *et al.*, 2017; Kouadri y Satha, 2018; Hameed *et al.*, 2020) las cuales han mostrado actividad antibacteriana contra cepas gram positivas y negativas, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* (Hussain *et al.*, 2014; Jalill y Ali, 2016).

## 2.5 Vitamina E: (Herbal E®)

La Vitamina E, es un importante antioxidante y componente lipídico de las membranas biológicas, su término es el descriptor de los derivados del tocol y tocotrienol en la actualidad se conocen ocho tocromanoles naturales que comprenden dos series homólogas: tocoferoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) y tocotrienoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -) de los cuales el que exhibe mayor actividad biológica es  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -T) reconocido como el primer análogo de vitamina E y junto con  $\gamma$ -T se encuentran en el suero y glóbulos rojos,  $\beta$ -T y  $\delta$ -T están en plasma en concentraciones mínimas,  $\alpha$ -T posee tres centros donde pueden aparecer los estereoisómeros y la molécula de origen natural es la configuración de D- $\alpha$ -tocoferol (RRR- $\alpha$ -tocoferol) que tiene la mayor actividad vitamínica (Rizvi *et al.*, 2014; Ahsan *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2018).

Como aditivo en la alimentación animal es más común en su forma de acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol sintético (all-rac-alfa-tocoferil acetato), es decir en forma sintética, el cual consiste en una proporción igual de ocho estereoisómeros posibles de  $\alpha$ -tocoferol (RRR, RRS, RSR, RSS, SRR, SRS, SSR, SSS) y su actividad biológica esta entre 25 y 100%, mientras que la configuración D- $\alpha$ -tocoferol (RRR- $\alpha$ -tocoferol) es la única forma que se encuentra en la naturaleza como derivados de aceites vegetales con una actividad biológica del 100%, los estereoisómeros de  $\alpha$ -T se metabolizan dentro del cuerpo de diferentes formas, por lo que una sola proporción no puede expresar la diferencia entre la actividad natural o sintética, sin embargo, algunos estudios han demostrado que D- $\alpha$ -tocoferol exhibe una biodisponibilidad superior que acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol sintético en la

retención en los tejidos, esto se ha atribuido a la presencia de la proteína de transferencia de  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TTP), que discrimina entre formas de  $\alpha$ -tocoferol y mantiene las concentraciones en plasma (Meglia *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2016).

La proteína de transferencia  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ TTP), que se une a esta vitamina y aumenta su transferencia entre membranas, está presente en el citosol hepático de los animales, incluidas ratas y humanos, en algunas investigaciones se ha clonado el gen que codifica  $\alpha$ TTP y se ha demostrado que es el gen causante de la deficiencia familiar aislada de vitamina E por lo que pacientes afectados tienen niveles plasmáticos bajos de  $\alpha$ -tocoferol, dicho hallazgos establecieron  $\alpha$ TTP en el hígado como un factor crítico para determinar el nivel de  $\alpha$ -tocoferol en plasma (Hosomi *et al.*, 1997; Irías-Mata *et al.*, 2018).

El poder antioxidante de la vitamina E radica en actuar en las membranas celulares con la capacidad de donación de átomo de H, ubicación (penetración) y movimiento dentro de la membrana, más la eficiencia del reciclado de radicales tocoferoxilo por parte de reductores citosólicos, como el ascorbato, previniendo la propagación de las reacciones de radicales libres, aunque también se ha demostrado que tiene actividad pro-oxidante, los productos de oxidación no radicales se forman por la reacción entre el radical  $\alpha$ -tocoferilo y otros radicales libres que se conjugan con ácido glucurónico y se excretan a través de la bilis o la orina; se transporta en las lipoproteínas plasmáticas, después de su absorción intestinal se empaqueta en quilomicrones, que a lo largo de la vía linfática se secretan en la circulación sistémica y por la acción de la lipoproteína lipasa (LPL), parte de los tocoferoles transportados en quilomicrones se absorben en tejidos extrahepáticos, los quilomicrones remanentes transportan a los tocoferoles restantes al hígado y que por la acción de la  $\alpha$ -TTP una proporción importante de  $\alpha$ -T se incorpora a las lipoproteínas nacientes de muy baja densidad (VLDL), mientras que el exceso de  $\alpha$ -T más las otras formas de vitamina E se excreta en bilis, por lo que una vez secretados en la circulación, los VLDL se convierten en IDL y LDL por la acción de LPL y el exceso de componentes de la superficie incluido  $\alpha$ -T se transfiere a HDL (Herrera y Barbas, 2001; Traber y Atkinson, 2007; Traber, 2013).

### 2.5.1 Metabolismo y absorción

La absorción de la vitamina E en los enterocitos mejora si se consume con alimentos altos en lípidos y se ve alterada con la presencia de inhibidores de la lipasa gastrointestinal que impidan la absorción de grasas la misma, así como se ha demostrado que es saturable y se ve afectada por la coexistencia de otros compuestos liposolubles del alimento como puede ser el lignano secoisolariciresinol diglucósido de linaza, que reduce a la mitad las concentraciones de  $\alpha$ -T y  $\gamma$ -T en el plasma y el hígado, de acuerdo con Frank *et al.*, (2004) es por ello que tras la ingesta oral, los tocoferoles solubles en lípidos y los tocotrienoles se incorporan en micelas mixtas y se absorben en el intestino delgado, siguiendo la ruta general de los lípidos de la dieta, el grado de absorción y transporte al hígado es casi similar para los ocho congéneres de la vitamina E, pero luego el hígado libera selectivamente  $\alpha$ -T en la circulación sistémica, mientras que los congéneres no  $\alpha$ -T se metabolizan preferentemente a la cadena lateral carboxietilo hidroxicromanoles a través de una vía dependiente del citocromo P450, la retención selectiva de  $\alpha$ -T en el organismo parece ser el resultado de una interacción de esta vía catabólica con la proteína de transferencia de  $\alpha$ -T hepática ( $\alpha$ TTP), una proteína citosólica que se une específicamente a  $\alpha$ -T y tiene afinidades mucho más bajas para  $\beta$ -tocoferol (38%),  $\gamma$ -tocoferol (9%) y  $\delta$ -tocoferol (2%), otro posible mecanismo para la retención selectiva de  $\alpha$ -T es que la vitamina E se degrada a metabolitos de carboxietil hidroxicromanol (CEHC) acortados de cadena lateral por medio de CYP (citocromo P450) (Castellini *et al.*, 2007; Grebenstein *et al.*, 2014; Irías-Mata *et al.*, 2018).

Gracias a la afinidad de unión  $\alpha$ -T con el  $\alpha$ -TTP, la mayoría de los  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ - tocoferoles que son absorbidos se secretan en la bilis y en heces, mientras que  $\alpha$ -T se excreta principalmente en la orina y está también se acumula en tejidos no hepáticos, particularmente en los sitios donde la producción de radicales libres es mayor membrana mitocondrial y retículo endoplásmico en corazón y pulmones (Rizvi *et al.*, 2014).

Entre las deficiencias de vitamina E se encuentran reabsorción fetal (Traber, 2013), en recién anemia hemolítica, enfermedad de la retina, displasia broncopulmonar (Kowsalya *et al.*, 2021), altera funciones inmunitarias humorales (menor producción de anticuerpos) como las reportadas en ratones y ratas e incluso variación en la proliferación de linfocitos

en perros, corderos, cerdos, pollos y ratas, así como alteraciones mediadas por células (células T) (Lewis *et al.*, 2019), en cuanto a relación en producción animal, disminución del rendimiento (Belles *et al.*, 2019), distrofia muscular en conejos y lesiones neurológicas en ratas e incluso puede ser más graves si se combina con la ausencia de selenio o vitamina C (Castellini *et al.*, 2007) inestabilidad del color de la carne (José *et al.*, 2016).

En cuanto a excedente a diferencia de lo reportado en vitaminas A y D, no se ha encontrado evidencia de efectos tóxicos con excedente de vitamina E, sin embargo, se observó aumento en la tendencia a hemorragias, probablemente como resultado de la interferencia con el estado de la vitamina K (Traber, 2013), así como evidencia de daño prooxidante asociado con suplementos en dosis (>1.000 mg/día) altas en humanos (Rizvi *et al.*, 2014).

Entre los objetivos principales de emplear Vitamina E como aditivos en producción animal, está optimizar respuestas productivas en animales jóvenes (Belles *et al.*, 2019), sin embargo, la mayoría de las fórmulas comerciales a base de Vitamina E disponibles se estabilizan mediante una fracción de acetato para evitar su oxidación por diversos factores dietéticos y ambientales, pero estas presentaciones son de origen sintético (Rey *et al.*, 2015), por lo que en la actualidad se busca emplear productos naturales con alto contenido de vitamina E, los cuales se componen por diferentes hierbas, tal es el caso de Herbal E® a base de *Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis* y que contiene las formas de tocoferoles y tocotrienoles, así como fosfolípidos y moléculas fenilpropanoides (Mendoza-Martínez *et al.*, 2018).

## **2.5.2 Plantas que integran la mezcla herbal**

### **2.5.2.1 *Ocimum sanctum***

El género *Ocimum* pertenece a la familia Lamiaceae, que comprende aproximadamente 68 especies otro nombre con el que puede encontrarse es *Ocimum tenuiflorum* L., es un arbusto aromático conocido comúnmente como Holy Basil o Tulsi, las hojas contienen aceites esenciales que incluyen tolueno, canfeno, octano, benceno, citronelal, sabinene, limoceno, ledol, dimetilbenceno, etil-2-metilbutirato, eugenol, terpinoleno,  $\beta$ -elemeno, isocariofileno, iso-eugenol,  $\alpha$ -amorfenol,  $\alpha$ -guaiene,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -terpeneol, borneol, calamina, nerolidol, carvacrol, geraneol, óxido de humuleno, elemol,

tetradecanal,  $\alpha$ -bisbolol, selin-11-en-4- $\alpha$ -ol,  $\alpha$ -muroloeno, 14-hidroxi- $\alpha$ -humuleno, la parte aérea contiene luteolina, orientina, ácido ursólico, apigenina-7- $\beta$ -D-glucuronido, luteolina-7- $\beta$ -D-glucuronido, isorientina, esculina, ácido de vallinina, ácido gálico, circineol, ácido clogénico, estigmasterol, ácido urosólico, ácido 4-hidroxibenzoico, vicenina-2, ácido clorogénico, ácido procatecuico, fenilpropanoglucósidos,  $\beta$ -estigmasterol, en las semillas se encontraron ácido oleico, esteárico, hexourenico, palmítico, linodilinolina y linolénico y en hojas frescas y tallo compuestos fenólicos apigenina, circimaritina, isotimusina, eugenol y ácido rosmarínico, dentro de sus propiedades se reportan actividad antidiabética, protectores de radiación, inmunomoduladores, antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, antiestrés y anticancerígenos, con actividad inhibitoria contra colagenasa, elastasa y hialuronidasa (Bano *et al.*, 2017; Singh y Chaudhuri, 2018; Chaiyana *et al.*, 2019).

#### 2.5.2.2 *Emblica officinalis*

También conocida como *Phyllanthus emblica* L o Amla, el principal empleo es en la medicina ayurveda, gracias a sus propiedades antidiabéticas, anticancerígenas, hipolipidémicas, antiinflamatorias y antioxidantes y en investigaciones recientes el efecto de los radicales libres a las células rojas de la sangre, alteración de la membrana y modificaciones de proteínas plasmáticas como la glicación y la carbonilación (Packirisamy *et al.*, 2018), es una fuente de polifenoles, flavonas, taninos y otros compuestos bioactivos, entre encontrando al ácido gálico, ácido elágico, glucosa 1-O-galoyl-D, ácido chebulinic, quercetina, ácido chebulagic, kaempferol, ácido 1,4-lactona mucico 3-O galato, isocorilagin, chebulanin, mallotusin y apigenin acilado, con actividades anticancerígenas, hipolipidémicas, expectorantes, purgantes, espasmolíticas, antibacterianas, hipoglucemiantes, hepatoprotectoras, hipolipidémicas y atenuar la dislipidaemia (Patil *et al.*, 2018).

## 2.6 Vitamina C: (Herbal C®)

La vitamina C, ácido L-ascórbico (AsA) o ascorbato, es una sustancia soluble en agua, que se encuentra en los cítricos (frutas) y verduras, existe en dos formas fisiológicas,

la primera es ácido L–ascórbico (forma reversiblemente reducida) que es un cofactor de varias enzimas importantes que actúan para mantener los iones de metales de transición en su forma reducida y participa en una variedad de funciones metabólicas, incluida la biosíntesis de proteínas de la matriz extracelular y neurotransmisores, y la regulación de la absorción de hierro y la segunda el ácido deshidro–L–ascórbico (DHA: forma reversiblemente oxidada), la vitamina C también actúa como cofactor de enzimas biosintéticas las cuales son necesarias para la síntesis de macromoléculas derivadas de aminoácidos, neurotransmisores, hormonas neuropéptidas y varias hidroxilasas implicadas en la regulación de la transcripción genética y epigenética, se considera eliminador natural de radicales libres, de especies reactivas de oxígeno (ROS) y del ácido semi–deshidroascórbico, eliminando O<sub>2</sub> y reduciendo radicales de azufre (Wei–Jun *et al.*, 2001; Carr y Vissers, 2013; Zou *et al.*, 2016).

Es aparentemente una molécula ubicua en células eucariotas y es probable que los procariotas no produzcan o requieran ascorbato, los grupos eucariotas seleccionados (incluidos primates, peces teleósteos, conejillos de indias, algunos aves e insectos) han perdido la capacidad de sintetizar Vitamina C debido a la mutación del gen que codifica la L–gulono– $\gamma$ –lactona oxidasa (*Gulo*) enzima terminal en la vía biosintética de la vitamina C, además también juega un papel esencial como cofactor enzimático en reacciones de hidroxilación, contribuyendo a procesos de síntesis de colágeno y desmetilación de histonas y ácidos nucleicos, por lo que debe ingerirse de manera regular a través de la ingesta, ya que participa en una variedad de procesos, que incluyen fotosíntesis, fotoprotección, crecimiento de la pared y expansión celular, resistencia al estrés ambiental y síntesis de etileno, giberelinas, antocianinas e hidroxiprolina (Smirnoff y Wheeler, 2000; Blaschke *et al.*, 2013; Carr y Vissers, 2013; Pehlivan, 2017; Smirnoff, 2018).

Entre sus diversos mecanismos biológicos se encuentra la prevención y restauración del deterioro del flujo microcirculatorio causado por especies reactivas de oxígeno, preservación de la respuesta vascular a vasoconstrictores, preservación de la función de barrera endotelial y aumento de la defensa antibacteriana, lo que resulta en mitigación de la lesión de órganos (Zhang y Jativa, 2018) y como se mencionó, su capacidad antioxidante, como cofactor enzimático y precursor para la síntesis de oxalato y tartrato, puede eliminar directamente varias especies diferentes de oxígeno reactivo, mantener un tocoferol en

estado reducido y actuar como un sustrato para la peroxidasa AsA, también conserva la actividad de varias enzimas diferentes, manteniendo los iones metálicos del grupo protésico en el estado reducido (Conklin *et al.*, 1999).

El producto de oxidación de un electrón del ascorbato es el radical monodehidroascorbato (MDHA), probablemente el determinante clave de su papel biológico ya que debido a la estabilización de la resonancia, el MDHA no reacciona fácilmente con el oxígeno u otras moléculas para generar radicales más reactivos y por lo tanto, es eficaz como eliminador de radicales, ya que el ascorbato solo reacciona con radicales generados biológicamente, como superóxido, radicales tocoferoxilo y radicales alcoxilo/peroxilo y una concentración suficientemente alta, también podría complementar la SOD en la eliminación de superóxido (reacciona muy rápidamente con el NO para producir peroxinitrito, que puede generar más radicales y causar la nitración de la tirosina que puede generar más radicales y causar la nitración de la tirosina) in vivo y tiene el potencial de regenerar el tocoferol a partir de radicales tocoferoxilo in vivo (Wheeler *et al.*, 2015; Smirnoff, 2018).

Si bien los conejos pueden sintetizar la vitamina C a partir de la glucosa las condiciones de estrés pueden afectar este proceso. (Castellini *et al.*, 2007) el requerimiento de AsA y actividad GULO dependen de los diferentes niveles de estrés oxidativo y de los requerimientos de energía, en experimentación conejos durante el invierno es mayor que en el verano, lo que indica que se obtiene menos AsA de la hierba o que se necesita más energía para los conejos en invierno (Yang, 2013), o bien la situación que se presenta con conejos en interiores, en la que existe disminución en la actividad de la enzima, lo que implica que se requiere menos energía, menor nivel de oxidación y por lo tanto, menor capacidad antioxidante que los individuos alimentados al aire libre, por estas situaciones es que debe administrarse a través de la ingesta para prevenir la hipovitaminosis (Carr y Vissers, 2013).

### **2.6.1 Metabolismo y absorción**

El mantenimiento de la reserva corporal de vitamina C depende de la ingesta, absorción, reciclaje y recaptación renal de la vitamina y los niveles de concentración en sangre y tejidos están estrictamente controladas por transportadores dependientes de sodio

(SVCT) que son glicoproteínas de superficie (Rowe y Carr, 2020; Ratajczak *et al.*, 2020). La biosíntesis de vitamina C se incluye en la ruta metabólica del ácido glucurónico (importante también para procesos de desintoxicación), involucrada en el metabolismo de los azúcares en condiciones tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Pehlivan, 2017).

La vitamina C debe absorberse en intestino delgado (epitelio), salir de las células epiteliales y transportarse a sitios clave y el riñón juega un papel esencial en la reabsorción del ácido ascórbico del filtrado renal (Wei–Jun *et al.*, 2001). La vitamina C se transporta al cuerpo a través de dos transportadores o vías dependientes de Na (SVCT1 y SVCT2) que exhiben diferentes distribuciones tisulares y cinéticas de absorción, SVCT1 se expresa en la membrana apical de los tejidos epiteliales (barrera epitelial) y es responsable de la captación intestinal y la reabsorción renal de vitamina C y SVCT2 se localiza en la superficie basolateral se expresa en tejidos especializados y metabólicamente activos y es necesaria para el suministro de vitamina C a los tejidos con una alta demanda de Vitamina C (transporta Vitamina C desde la sangre a los enterocitos) ya sea para reacciones enzimáticas y/o ayudar a proteger estos tejidos del estrés oxidativo, la otra vía es DHA (Deshidroascorbato) independiente del sodio y es transportado por GLUT (GLUT1 y 3 y en menor medida GLUT4) y GLUT8 y 2 para transportar DHA a enterocitos de rata y también están presentes intestino delgado del humano (Carr y Vissers, 2013; Lane y Richardson, 2014; Figeroa–Mendez y Rivas–Arancibia, 2017; Ratajczak *et al.*, 2020).

La hipovitaminosis C en humanos puede encontrarse fatiga, letargia, irritabilidad y depresión, si la situación persiste se presentará una deficiencia de vitamina C lo que puede presentarse escorbuto clínico que se caracteriza por debilitamiento de las estructuras de colágeno y se manifiesta con cicatrización deficiente de las heridas, inmunodepresión y deterioro del crecimiento óseo en los niños y también falta de formación adecuada del tejido conectivo, hemorragias, incluidas las perifoliculares, petequias, equimosis y hemorragia gingival (Carr y Maggini, 2017; Plevin y Galletly, 2020; Rowe y Carr, 2020). Los niveles altos de Vitamina C pueden ser tóxicos, de manera normal el ascorbato se excreta a través de la orina, sin embargo, un exceso ocasiona formación de oxalato que puede acumularse en varios órganos de pacientes con insuficiencia renal (trasplante de

riñón y diálisis) con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa a causa de hemólisis intravascular (Grosso *et al.*, 2013).

## 2.6.2 Plantas que integran la mezcla herbal

### 2.6.2.1 *Phyllanthus emblica L*

También se conoce como Amla, *Emblica officinalis Gartn* o grosella espinosa india de la familia Euphorbiaceae El fruto de este árbol es un reservorio de varios nutraceuticos como calcio, vitamina C, lisina, minerales, metionina, ácido nicotínico, fósforo, riboflavina y triptófano (Gantait *et al.*, 2021), de acuerdo con Khan, (2009) en el jugo se puede encontrar 478.56 mg/100 ml y entre 200–900 mg/100 g de porción comestible (Kumar *et al.*, 2018), así mismo se ha informado que 8.75 mg de vitamina C natural de *Phyllanthus emblica* equivale a 100 mg de vitamina C sintética, lo que la convierte en una fuente importante ácido L-ascórbico o ascorbato (Begum *et al.*, 2019), además es uno de los de los tres ingredientes de la formulación herbácea greco-árabe conocida como "Trifla" (*Phyllanthus emblica*, *Terminalia chebula*– y *Terminalia bellerica*), se reconoce por sus actividades biológicas en medicina ayurvédica para tratar anemia, ictericia, asma, fiebre, úlceras crónicas hipolipidémicas, hipoglucémicas y con actividad antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, inmunomoduladora, cardio, gastro, nefro y neuroprotectoras, (Mehmood *et al.*, 2012; Kulkarni y Ghurghure, 2018; Huang *et al.*, 2017).

En la raíz se encontraron norsesquiterpenoides (análogos 4'-hidroxifillaemblicina B, filamblicinas E y F, ácido filamblico, filamblicina A, B y C), quercetina y  $\beta$ -sitosterol, las frutas contienen galatos de ácidos orgánicos y polifenoles (ácido gálico, galato de metilo, ácido elágico), en las ramas, corteza y hojas elagitaninos y flavonoides (quercetina y kaempferol -3-O-  $\alpha$  -l- (6' -metil) -ramnopiranosido), ácido quebulico, quebulado, quebulínico, galotanino (ácido amílico) y alcaloides (Liu *et al.*, 2009; Mirunalini y Krishnaveni, 2010; Mehmood *et al.*, 2011; Mehmood *et al.*, 2012; Dasaroju y Gottumukkala, 2014).

### **3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La utilización de aditivos químicos y sintéticos había sido una práctica común en producción animal para mejorar respuesta productiva ganancia de peso y consumo de alimento y en consecuencia mejor rendimiento de las canales, para la industria cárnica era preservar por mayor tiempo características de calidad de los productos, sin embargo, se ha demostrado que su empleo tiene efectos secundarios negativos como resistencia de microorganismos patógenos, oncológicos, residuales en productos y subproductos cárnicos, así como ambientales, situación que en algunos países el costos en atención medica se han elevado.

Por lo que en los últimos años se han buscado estrategias de producir de forma natural y segura los alimentos para consumo humano, por lo que una de las tendencias se centra en el estudio de compuestos bioactivos o también llamados fitoquímicos o fitobióticos, derivados de plantas o hierbas, que ayuden a prevenir y evitar los efectos negativos secundarios y residuales, si bien en un inicio las investigaciones versaban en su mayoría evaluar y analizar compuestos individuales de plantas o hierbas, en la actualidad, el enfoque e interés radica sobre las mezclas y combinaciones, lo cual implicaría una biodisponibilidad mejorada de sinergismos entre los ingredientes de plantas seleccionadas, sin bien aún es un campo relativamente nuevo, es importante realizar investigaciones que ayuden a establecer interacciones y dosis de los compuestos, así como la integración de herramientas, técnicas y disciplinas.

#### **4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿La mezcla herbal de BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), tendrán efecto sobre respuesta productiva, rendimiento de la canal, indicadores económicos de producción y en calidad de carne de conejos en crecimiento?

## 5 HIPÓTESIS

La adición de la mezcla herbal BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), mejorará respuesta productiva, rendimiento de la canal, indicadores económicos de producción y calidad de carne en conejos

## **6 OBJETIVO**

### **6.1 Objetivo general**

Evaluar la adición de mezclas herbales sobre respuesta productiva, rendimiento de la canal, indicadores económicos productivos y calidad de la carne en conejos

### **6.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la respuesta productiva: Peso Inicial y Final, Consumo Voluntario de alimento, Conversión alimenticia, Ganancia Diaria de Peso
- Determinar el rendimiento de la canal: Peso Canal Caliente, Peso Canal Fría, peso de órganos torácicos y abdominales, peso de hígado, riñones y grasa perirrenal
- Analizar la calidad de la carne: coordenadas de color y Capacidad de Retención de Agua
- Determinar el impacto económico de la adición de las fórmulas poliherbales

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

Las experimentaciones con animales vivos fueron realizadas con apego a los lineamientos aprobados por el Comité Académico del Departamento de Ciencia Animal de Ética, Bioseguridad y Bienestar Animal del Centro Universitario UAEM Amecameca de la Universidad Autónoma del Estado de México. Se realizaron en el área metabólica cunícola.

### 7.1 Animales y dietas

Se utilizaron 40 gazapos destetados (30 días de edad), raza California X Nueva Zelanda. Desde el inicio del experimento, los conejos se asignarán de manera aleatoria en jaulas individuales equipadas con comederos y bebederos, cada uno se consideró como unidad experimental. Los experimentos tuvieron una duración de 34 día, con una semana de adaptación con dieta formulada (Cuadro 2) de acuerdo a los requerimiento nutricionales del NCR, 1977 para conejos en crecimiento, al término de este periodo se dividieron en 5 tratamientos con 8 repeticiones cada uno, los tratamiento se conformaron con la dieta formulada, la cual se consideró como el control (0.0 mg kg<sup>-1</sup>), al termino del periodo de adaptación se adicionaron 200, 400, 600 y 800 mg kg<sup>-1</sup> de alimento de MS, de las diferentes mezclas herbales comerciales de la empresa Technofeed México, mismas que son BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*), el alimento se proporcionó en forma de pellets y junto con el agua se ofrecieron *ad libitum*.

**Cuadro 2.** Ingredientes (g/kg), mezcla herbal (mg/kg) de las dietas experimentales.

Ingredientes	Mezcla herbal mg kg <sup>-1</sup> MS				
	Control	200	400	600	800
Salvado de trigo	33	33	33	33	33
Grano de maíz	19	19	19	19	19
Heno de avena	19	19	19	19	19
Pasta de soya 44%	17	17	17	17	17
Heno de Alfalfa	9	9	9	9	9
Aceite vegetal	2	2	2	2	2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	1	1	1	1
Mezcla herbal* mg kg <sup>-1</sup> MS	0.0	200	400	600	800

NCR, 1977

\* BioCholine® (*Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata*), Herbal E® (*Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*) y Herbal C® (*Phyllanthus emblica*)

## 7.2 Respuesta productiva

Desde el inicio de los experimentos se llevó a cabo el registro de peso cada siete días para obtener ganancia diaria de peso (GDP), a través de la fórmula:

$$GPD = (\text{Ganancia total de los animales})/(\text{días de alimentación})$$

El peso final (PF) se tomó un día antes de la matanza

Para determinar consumo voluntario (CV) se pesó alimento ofrecido y rechazado todos los días y los datos fueron sustituidos en la fórmula:

$$CA = (\text{Consumo diario})/GPD$$

Con los datos de ganancia de peso (GP) y (CV) se calculó Conversión Alimenticia (CA).

## 7.3 Recolección y análisis de muestras

### Matanza y preparación de la canal

A los 65 días de edad los conejos se llevaron a matanza con ayuno de 24 horas de alimento sólido, la preparación de la canal se realizó con la metodología de Peiretti y Meineri, (2008), para lo cual fue removido piel, patas, órganos genitales, vejiga urinaria,

cabeza, hígado, riñones, corazón y pulmones, una vez que se obtuvo la canal se pesó para obtener peso de la canal caliente con cabeza.

También se registró peso del tracto gastrointestinal completo y órganos torácicos (corazón y pulmones); las canales se almacenaron a 4°C durante 24 horas y se obtuvo el peso de canal fría, para realizar los análisis de calidad de la carne, se realizó disección bilateral de los músculos Longissimus dorsi a nivel de la 5ta vértebra lumbar, de acuerdo con Blasco y Ohayun, (1996).

### **7.3.1 Análisis de calidad de la carne 24 horas postmortem**

Las lecturas se realizaron por duplicado en cada muestra

#### **7.3.1.1 pH (24h)**

Las mediciones se tomaron con un potenciómetro portátil con cuchilla de penetración para carne (Hanna instruments H199163), el cual fue calibrada a temperatura ambiente con soluciones buffers de 4.0 y 7.0 con una profundidad de 3 mm en la muestra (Hajji *et al.*, 2016).

#### **7.3.1.2 Color**

Los valores para evaluar color se tomaron con un colorímetro (Konica Minolta, tricromático) y las lecturas se reportaron en el sistema de CIELAB color a través de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , haciendo referencia a luminosidad (L) que va de blanco [100] a negro [0], croma ( $C^*$ ) muestra la saturación del color y ángulo Hue ( $H^*$ ) que se basa en formar grados en un rango de 0° (rojo) a cercano a 90° (amarillo), 180° (verde) y 270° (azul), los valores se obtuvieron con las fórmulas de Wang *et al.*, (2016):

$$C^* = (a^*^2 + b^*^2)^{1/2}; Hue = 180 + (\arctan b/a)$$

### **7.3.1.3 Pérdida de Agua por Goteo (PAG)**

Se determinó siguiendo la metodología propuesta por Jiang *et al.*, (2015), las muestras de carne (canales) se almacenaron y refrigeraron a 4°C, se colgaron en bolsas de polietileno de manera que la canal no tuviera contacto con la bolsa, después de 24 horas se volvieron a pesar, los resultados se expresaron en porcentaje y se obtuvieron sustituyendo los valores en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida de agua por goteo} = \text{peso canal caliente} - \text{peso de la canal fría}$$

### **7.3.1.4 Pérdida de agua por presión (PAP)**

De acuerdo con la metodología propuesta por Simitzis *et al.*, (2014), se colocaron 0.3 g de muestras de músculo L. dorsi (P1) entre 2 piezas de papel de filtro y se prensaron durante 5 min, utilizando un peso de 2,25 kg y se pesaron (P2). Los resultados se expresaron en porcentaje y se obtuvieron sustituyendo los valores en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida de agua por presión} = (P1 - P2) / P1 \times 100$$

### **7.3.1.5 Pérdida de Agua por Cocción (PAC)**

Se utilizaron muestras de 3.5 g del músculo L. *dorsi* derecho de cada conejo (PI), los cuales se empaquetaron al vacío en bolsas de plástico, y fueron sometidas a cocción por inmersión en baño de agua a temperatura de 80°C durante 60 minutos, posteriormente se enfriaron, secaron y pesaron (Celia *et al.*, 2016), los valores se sustituyeron en la siguiente fórmula y los resultados se expresaron en porcentaje:

$$\% \text{ pérdida por cocción} = (PI - PF) / PI \times 100$$

## **7.4 Análisis económico de producción**

La adición de la mezcla herbal se evaluó económicamente considerando costo de gazapo a los 30 días de edad, precio del mercado de cada ingrediente de la dieta incluyendo la mezcla herbal por dosis de tratamiento con precios del año 2019, también se calcularon

egresos parciales, precio de venta de animales vivos y en canales, considerando estos como ingresos, se obtuvo utilidad bruta (ingresos/egreso), así como la relación ingresos/egresos en pie y canal, los costos reportados son parciales.

## **8 Análisis estadístico**

Los resultados se analizaron con un diseño completamente al azar, utilizando el software R (Mirman, 2014), empleado peso inicial como covariable para las variables productivas y utilizaron polinomios ortogonales para obtener efectos lineales y cuadráticos para evaluar los efectos del aditivo polihierbal (Steel *et al.*, 2011) con un nivel de significancia  $p < 0.10$ .

## 9 RESULTADOS

Productos escritos, derivados de esta investigación son:

### Artículo científico

Se aceptó el artículo científico bajo el título: **“Impacto económico y productivo de una mezcla polihierbal con derivados de colina en producción de conejos”** a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.



The screenshot shows the website of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIAP). The page is titled 'Envíos activos' (Active Submissions) and displays a table with one entry. The entry details are as follows:

ID	Código	Artículo	Autores	Título	Acción
5939	02-10	ART	Espinosa Ayala, Jauréz Espinosa...	<a href="#">IMPACTO ECONOMICO Y PRODUCTIVO DE UNA MEZCLA POLIHERBAL...</a>	<a href="#">EN EDICIÓN</a>

Below the table, it indicates 'Elementos 1 - 1 de 1'. To the right of the table, there is a box for the ISSN en línea (2448-6698) and a user login section.

Adicionalmente se escribieron otros dos artículos científicos los cuales están en revisión para su posterior envío y se intitulan:

- Efecto de aditivos alimentarios a base de hierbas con alto contenido de vitamina C en conejos en crecimiento
- Efecto sobre respuesta productiva, rendimiento de la canal, calidad de carne e impacto económico de un aditivo polihierbal rico en vitamina E en conejos

### Artículo de divulgación científica

Con el título: **“Efecto de colina herbal sobre rendimiento de la canal de conejo”**

Revista Mexicana de Agroecosistemas

Vol. 6 (Suplemento 2), 2019 16-18 de octubre ISSN:2007-9559



*Revista Mexicana de Agroecosistemas*  
Vol. 6 (Suplemento 2), 2019 16-18 de octubre ISSN:2007-9559  
Memoria de artículos en extenso y resúmenes  
“XLVI Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción  
Animal y Seguridad Alimentaria, A. C.”

## EFFECTO DE COLINA HERBAL SOBRE RENDIMIENTO DE LA CANAL DE CONEJO

### [EFFECT OF HERBAL COLINE ON PERFORMANCE OF RABBIT CARCASS]

M. Jaurez-Espinosa<sup>1</sup>, E. Espinosa-Ayala<sup>2\*</sup>, P. A. Hernández-García<sup>2</sup>, A. I. Osorio-Terán<sup>3</sup>, G. D. Mendoza-Martínez<sup>3</sup>, M. Z. Tapia-Rodríguez<sup>2</sup>, O. Márquez Molina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México. <sup>2</sup>Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México. <sup>3</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento Producción Agrícola y Animal, Cd de México, México. <sup>4</sup>Autor para correspondencia: (enresayal@hotmail.com).

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar efecto de la adición la fórmula herbal BioCholine® en dieta de conejos en crecimiento, los cuales se agruparon en tres tratamientos: tratamiento 1 con una adición de 0, tratamiento 2 con de 200 y tratamiento 3 con de 400mg de BioCholine® kg<sup>-1</sup> de un alimento balanceado. En este estudio se emplearon 39 conejos destetados (4 semanas) de la cruce de Nueva Zelanda x California, mismos que fueron distribuidos de manera aleatoria en jaulas individuales y considerándose cada uno como una unidad experimental, antes de la adición del compuesto herbal, se dio una semana de adaptación, con dieta control. Al término de un periodo de 35 días, los conejos se llevaron a matanza para obtener el peso de la canal. Se determinó el peso de la canal caliente y fría, órganos abdominales, torácicos y piel, posteriormente se obtuvo el rendimiento de la canal caliente y fría, órganos abdominales y piel. Los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar (ANOVA). La comparación de medias se hizo con prueba Tukey, con nivel de significancia de ( $p \leq 0.05$ ). No se observaron cambios entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ), en peso final y rendimiento de la canal. Se concluye que la adición de Biocholine®, no mejoraron parámetros productivos, ni rendimiento de la canal en conejos durante la fase de crecimiento. Se requiere más investigación para establecer una posible dosis de esta fórmula herbal para mejorar dichos indicadores.

**Palabras clave:** Aditivos naturales, calidad de carne, plantas medicinales, vitaminas.

## 10 CONCLUSIÓN GENERAL

La adición de mezclas herbales con conjuntos de colina a base de *Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Azadirachta indica*, *Citrullus colocynthis* y *Andrographis paniculata* a dosis de 200 mg kg<sup>-1</sup> generó una menor conversión alimenticia y por ende indicadores económicos favorables; del mismo modo la mezcla integrada por *Phyllanthus emblica* rica en vitamina C a dosis de 600 mg kg<sup>-1</sup> son una opción como aditivos alimenticios para conejos en crecimiento, al mejorar la rentabilidad y mantener respuesta productiva y no modificar la calidad de la carne, no así para el compuesto Herbal rico en vitamina E que tiene como ingredientes a *Ocimum sanctum* y *Emblica officinalis*, la cual no se observaron beneficios en rentabilidad económica, respuesta productiva, rendimiento de la canal o calidad de la carne.

## **11 SUGERENCIAS**

Realizar más investigaciones con la intención de encontrar dosis óptima

Ampliar número de repeticiones, muestreos y periodos de producción

Análisis hematológicos y microbiológicos (tracto gastrointestinal)

Análisis de oxidación lipídica y proteica en carne

Analizar la genómica nutricional y metagenoma

## 12 LITERATURA CITADA

- Abdalla, I. A. I., & Ebrahiem, I. T. M. A. (2020). The Effect of Feeding *Moringa olifera* and *Prosopis chilensis* as Additive Feeds on Weight Gain of Sudanese Camel. *Journal of Animal Science*, 1(7).
- Abd Allah, D., Tawfeek, M., & El Kerdawy, D. (2020). Impact of dietary supplementation with nano and organic selenium without or with vitamin E on growth performance and selenium metabolism in growing rabbits. *Journal of Productivity and Development*, 25(3), 323-342. 10.21608/jpd.2020.130623
- Abecia, L., Fondevila, M., Balcells, J., Edwards, J. E., Newbold, C. J., & McEwan, N. R. (2005). Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum. *FEMS microbiology letters*, 244(1), 111-115.
- Abecia, L., Fondevila, M., Rodríguez- Romero, N., Martínez, G., & Yáñez- Ruiz, D. R. (2013). Comparative study of fermentation and methanogen community structure in the digestive tract of goats and rabbits. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97, 80-88. DOI: 10.1111/jpn.12049
- Abou-Elkhair, R., Selim, S., & Hussein, E. (2018). Effect of supplementing layer hen diet with phytogetic feed additives on laying performance, egg quality, egg lipid peroxidation and blood biochemical constituents. *Animal Nutrition*, 4(4), 394-400. doi.org/10.1016/j.aninu.2018.05.009
- Adeyemi, K. D., Shittu, R. M., Sabow, A. B., Abubakar, A. A., Karim, R., Karsani, S. A., Sazili, A. Q. (2016). Comparison of myofibrillar protein degradation, antioxidant profile, fatty acids, metmyoglobin reducing activity, physicochemical properties and sensory attributes of gluteus medius and infraspinatus muscles in goats. *Journal of animal science and technology*, 58(1), 23. doi.org/10.1186/s40781-016-0105-5
- Ahsan, H., Ahad, A., & Siddiqui, W. A. (2015). A review of characterization of tocotrienols from plant oils and foods. *Journal of chemical biology*, 8(2), 45-59. DOI 10.1007/s12154-014-0127-8
- Alagawany, M., El-Hindawy, M., Attia, A., Farag, M., & El-Hack, M. A. (2015). Influence of dietary choline levels on growth performance and carcass characteristics of growing

Japanese quail. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 3(2), 109-115.  
doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.2.109.115

Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., El-Hack, A., Mohamed, E., Khafaga, A. F., ... & Dhama, K. (2019). Use of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) herb as a feed additive in poultry: Current knowledge and prospects. *Animals*, 9(8), 536. doi.org/10.3390/ani9080536

Aldana-Hernández, P., Leonard, K. A., Zhao, Y. Y., Curtis, J. M., Field, C. J., & Jacobs, R. L. (2020). Dietary choline or trimethylamine N-oxide supplementation does not influence atherosclerosis development in *Ldlr*<sup>-/-</sup> and *Apoe*<sup>-/-</sup> male mice. *The Journal of nutrition*, 150(2), 249-255. doi.org/10.1093/jn/nxz214

Ali, M., Soltanian, S., Akbary, P., & Gholamhosseini, A. (2018). Growth performance and lysozyme activity of rainbow trout fingerlings fed with vitamin E and selenium, marjoram (*Origanum spp.*), and ajwain (*Trachyspermum ammi*) extracts. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 650-660. DOI: 10.1080/09712119.2017.1380029

Alzohairy, M. A. (2016). Therapeutics role of *Azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. *Evidence-Based complementary and alternative medicine*, 2016, 1-11. doi.org/10.1155/2016/7382506

Arshad, I., Naqvi, S. Z. H., Hussain, J., Naeem, H., Shahzad, S., Aslam, A., ... & Ghayas, A. (2021). Effect of Neem (*Azadirachta indica*) and Tulsi (*Ocimum sanctum*) leaves powder on growth performance, hemato-biochemical profile and carcass traits of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 45(3), 388-395. doi:10.3906/vet-2010-113

Asker, A. S., Tawfeeq, A. A., Alhamdani, H. A. A., & Alhamdani, A. A. (2021). Effect of addition of ginger (*Zingiber officinale*) and vitamin E on level of cortisol, ADA enzyme and liver enzymes in Awassi ewes. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 761(1), 1-7. doi:10.1088/1755-1315/761/1/012087

Athanasiadou, S., Githiori, J., & Kyriazakis, I. (2007). Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal*, 1(9), 1392-1400. doi: 10.1017/S1751731107000730

Ayala Martínez, M., Zepeda-Bastida, A., & Soto-Simental, S. (2020). Dietary supplementation effects with *Ruta graveolens* on performance, carcass traits and meat quality on rabbits.

- Bagóné Vántus, V., Dalle Zotte, A., Cullere, M., Bónai, A., Dal Bosco, A., Szendrő, Z., ... & Zsolnai, A. (2018). Quantitative PCR with 16S rRNA–gene–targeted specific primers for analysis of caecal microbial community in growing rabbits after dietary supplementation of thyme (*Thymus vulgaris*) and spirulina (*Arthrospira platensis*). *Italian Journal of Animal Science*, 17(3), 657-665.
- Bagóné Vántus, V., Kovács, M., & Zsolnai, A. (2014). The rabbit caecal microbiota: development, composition and its role in the prevention of digestive diseases—a review on recent literature in the light of molecular genetic methods. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 18(1), 55-65.
- Bano, N., Ahmed, A., Tanveer, M., Khan, G. M., & Ansari, M. T. (2017). Pharmacological evaluation of *Ocimum sanctum*. *J Bioequiv Availab*, 9(3), 387-392. DOI: 10.4172/jbb.1000330
- Begum, K., Talukdar, J., Kalita, K., Roy, T., Nath, R., & Rahman, M. (2019). Effect of Dietary Supplementation of Gooseberry/ Amla (*Emblica officinalis*) Powder on the Performance of Commercial Broiler Chicken. *International Journal of Livestock Research*, 9(11), 95-102. doi: 10.5455/ijlr.20190917033420
- Belenguer, A., Fondevila, M., Balcells, J., Abecia, L., Lachica, M., & Carro, M. D. (2011). Methanogenesis in rabbit caecum as affected by the fermentation pattern: in vitro and in vivo measurements. *World Rabbit Science*, 19(2), 75-83.
- Bellés, M., del Mar Campo, M., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2019). Supranutritional doses of vitamin E to improve lamb meat quality. *Meat science*, 149, 14-23. doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.002
- Bennegadi, N., Fonty, G., Millet, L., Gidenne, T., & Licois, D. (2003). Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen–free rabbits. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 15(1), 23-32. doi.org/10.1080/08910600310015574

- Blaschke, K., Ebata, K. T., Karimi, M. M., Zepeda-Martínez, J. A., Goyal, P., Mahapatra, S., ... Ramalho-Santos, M. (2013). Vitamin C induces Tet-dependent DNA demethylation and a blastocyst-like state in ES cells. *Nature*, 500(7461), 222–226. doi:10.1038/nature12362
- Blasco, A., Ouhayoun, J. (1996). Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. *World Rabbit Sciences*, 4 (2), 93-100. doi:10.4995/wrs.1993.189
- Bostami, A. B. M. R., Yang, C. J., Khan, M. R. I., Rabbi, A. K. M. Z., Hossain, M. D., Islam, M. R., ... & Rahaman, S. M. M. (2021). Ameliorating the crossbred (Local x Holstein Friesian) growing calves' growth performance, fecal microbial loads, and nutrient digestibility upon feeding local herbal feed additives as supplements. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 6(2), 79-87. doi.org/10.31248/JASVM2021.260
- Brewer, N. R. (2006). Biology of the rabbit. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 45(1), 8-24.
- Carabaño, R., Piquer, J., Menoyo, D., & Badiola, I. (2010). The digestive system of the rabbit. *Nutrition of the Rabbit*, 1-18.
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211. doi:10.3390/nu9111211
- Carr, A., & Vissers, M. (2013). Synthetic or Food-Derived Vitamin C—Are They Equally Bioavailable? *Nutrients*, 5(11), 4284–4304. doi:10.3390/nu5114284
- Castellini, C., Mourvaki, E., Dal Bosco, A., & Galli, F. (2007). Vitamin E biochemistry and function: a case study in male rabbit. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(3), 248-256. doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00760.x
- Celi, P., Cowieson, A. J., Fru-Nji, F., Steinert, R. E., Klünter, A. M., & Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology*, 234, 88-100. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012
- Celia, C., Cullere, M., Gerencsér, Z., Matics, Z., Tasoniero, G., Dal Bosco, A., Giaccone, V., Szendro, Zs., Dalle Zotte, A. (2016). Effect of pre-and post-weaning dietary

supplementation with Digestarom® herbal formulation on rabbit carcass traits and meat quality. *Meat Science*, 118. pp. 89-95. doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.022

Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Punyoyai, C., Neimkhum, W., Lee, K. H., Lin, W. C., ... & Mueller, M. (2019). *Ocimum sanctum* Linn. as a natural source of skin anti-ageing compounds. *Industrial Crops and Products*, 127, 217-224.

Cheng, K., Niu, Y., Zheng, X. C., Zhang, H., Chen, Y. P., Zhang, M., ... & Wang, T. (2016). A comparison of natural (D- $\alpha$ -tocopherol) and synthetic (DL- $\alpha$ -tocopherol acetate) vitamin E supplementation on the growth performance, meat quality and oxidative status of broilers. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(5), 681. doi: 10.5713/ajas.15.0819

Cimmino, R., Barone, C. M., Claps, S., Varricchio, E., Rufrano, D., Caroprese, M., ... & Neglia, G. (2018). Effects of dietary supplementation with polyphenols on meat quality in Saanen goat kids. *BMC veterinary research*, 14(1), 181. doi.org/10.1186/s12917-018-1513-1

Combes, S., Fortun-Lamothe, L., Cauquil, L., & Gidenne, T. (2013). Engineering the rabbit digestive ecosystem to improve digestive health and efficacy. *Animal*, 7(9), 1429-1439. doi.org/10.1017/S1751731113001079

Combes, S., Fortun-Lamothe, L., Cauquil, L., Gidenne, T. (2012, September). Controlling the rabbit digestive ecosystem to improve digestive health and efficacy. *In Proc: 10th World Rabbit Congress*, Sharm El Sheik, Egypt.

Conklin, P. L., Norris, S. R., Wheeler, G. L., Williams, E. H., Smirnoff, N., & Last, R. L. (1999). Genetic evidence for the role of GDP-mannose in plant ascorbic acid (vitamin C) biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 4198-4203.

Corbin, K. D., & Zeisel, S. H. (2012). Choline metabolism provides novel insights into non-alcoholic fatty liver disease and its progression. *Current opinion in gastroenterology*, 28(2), 159. doi: 10.1097/MOG.0b013e32834e7b4b

Dabbou, S., Gasco, L., Rotolo, L., Pozzo, L., Tong, J. M., Dong, X. F., ... & Gai, F. (2018). Effects of dietary alfalfa flavonoids on the performance, meat quality and lipid oxidation of growing rabbits. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 31(2), 270. doi: 10.5713/ajas.17.0284

- Dalle Zotte, A., Celia, C., & Szendrő, Z. (2016). Herbs and spices inclusion as feedstuff or additive in growing rabbit diets and as additive in rabbit meat: A review. *Livestock science*, 189, 82-90. doi.org/10.1016/j.livsci.2016.04.024
- Dasaroju, S., & Gottumukkala, K. M. (2014). Current trends in the research of *Emblica officinalis* (Amla): A pharmacological perspective. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 24(2), 150-59
- Davies, R. R., & Davies, J. A. R. (2003). Rabbit gastrointestinal physiology. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 6(1), 139-153. doi.org/10.1016/S1094-9194(02)00024-5
- De Blas, J. C. (2013). Nutritional impact on health and performance in intensively reared rabbits. *Animal*, 7(s1), 102-111. doi.org/10.1017/S1751731112000213
- De Veth, M. J., Artegoitia, V. M., Campagna, S. R., Lapierre, H., Harte, F., & Girard, C. L. (2016). Choline absorption and evaluation of bioavailability markers when supplementing choline to lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 99(12), 9732-9744. doi.org/10.3168/jds.2016-11382
- Dearing, M. D., & Kohl, K. D. (2017). Beyond Fermentation: Other Important Services Provided to Endothermic Herbivores by their Gut Microbiota. *Integrative and comparative biology*, 57(4), 723-731.
- Dyer, L. A., Dodson, C. D., Stireman, J. O., Tobler, M. A., Smilanich, A. M., Fincher, R. M., & Letourneau, D. K. (2003). Synergistic effects of three Piper amides on generalist and specialist herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 29(11), 2499-2514.
- Ebeid, H. M., Hassan, F. U., Li, M., Peng, L., Peng, K., Liang, X., & Yang, C. (2020). Camelina sativa L. Oil Mitigates Enteric In vitro Methane Production, Modulates Ruminal Fermentation, and Ruminal Bacterial Diversity in Buffaloes. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. doi.org/10.3389/fvets.2020.00550
- Ebrahimi, M. A., Sobhanirad, S., & Bayat, A. R. (2018). Effects of Ajwain (*Trachyspermum ammi*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) Oils on nutrients digestibility, blood parameters and growth performance of brown swiss neonatal calves. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(3), 387-395.

- El-Hack, A., Mohamed, E., Alagawany, M., Shaheen, H., Samak, D., Othman, S. I., ... & Sitohy, M. (2020). Ginger and its derivatives as promising alternatives to antibiotics in poultry feed. *Animals*, 10(3), 452. doi.org/10.3390/ani10030452
- El-Ratel, I. T., & Gabr, A. A. (2019). Effect of spirulina and vitamin E on reproduction and in vitro embryo production in heat-stressed rabbits. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 22(11), 545. DOI: 10.3923/pjbs.2019.545.553
- Emon, N. U., Alam, S., Rudra, S., Chowdhury, S., Rajbangshi, J. C., & Ganguly, A. (2020). Evaluation of pharmacological potentials of the aerial part of *Achyranthes aspera* L.: in vivo, in vitro and in silico approaches. *Advances in traditional medicine*, 1-14. doi.org/10.1007/s13596-020-00528-5
- Fang, S., Chen, X., Zhou, L., Wang, C., Chen, Q., Lin, R., ... & Gan, Q. (2019). Faecal microbiota and functional capacity associated with weaning weight in meat rabbits. *Microbial biotechnology*, 12(6), 1441-1452. doi.org/10.1111/1751-7915.13485
- Fang, S., Chen, X., Pan, J., Chen, Q., Zhou, L., Wang, C., ... & Gan, Q. F. (2020). Dynamic distribution of gut microbiota in meat rabbits at different growth stages and relationship with average daily gain (ADG). *BMC microbiology*, 20(1), 1-13. doi.org/10.1186/s12866-020-01797-5
- Figueroa-Méndez, R., & Rivas-Arancibia, S. (2015). Vitamin C in health and disease: its role in the metabolism of cells and redox state in the brain. *Frontiers in physiology*, 6, 397. doi.org/10.3389/fphys.2015.00397
- Frank, J., Eliasson, C., Leroy-Nivard, D., Budek, A., Lundh, T., Vessby, B., ... & Kamal-Eldin, A. (2004). Dietary secoisolariciresinol diglucoside and its oligomers with 3-hydroxy-3-methyl glutaric acid decrease vitamin E levels in rats. *British journal of nutrition*, 92(1), 169-176. DOI: 10.1079/BJN20041154
- Galván, C. D., Olvera, E. T. M., Gómez, D. M., Trujillo, A. G., García, P. A. H., Ayala, E. E., ... & Cruz, L. A. V. (2020). Influence of a Polyherbal Mixture in Dairy Calves: Growth Performance and Gene Expression. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. doi:10.3389/fvets.2020.623710

- Ganesh, S. S., Rao, P. S., Nandal, D. H., & Kunkulol, R. A review on pharmacological and phytochemical constituent of *Achyranthes aspera* Linn. *International Journal of Pharmacognosy*, 8(2).58-64. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP
- Gantait, S., Mahanta, M., Bera, S., & Verma, S. K. (2021). Advances in biotechnology of *Emblica officinalis* Gaertn. syn. *Phyllanthus emblica* L.: a nutraceuticals–rich fruit tree with multifaceted ethnomedicinal uses. *3 Biotech*, 11(2), 1-25. doi.org/10.1007/s13205-020-02615-5
- Garcia, M., Mamedova, L. K., Barton, B., & Bradford, B. J. (2018). Choline Regulates the Function of Bovine Immune Cells and Alters the mRNA Abundance of Enzymes and Receptors Involved in Its Metabolism in vitro. *Frontiers in immunology*, 9. 2448. doi.org/10.3389/fimmu.2018.02448
- Gaskins, H. R., Collier, C. T., & Anderson, D. B. (2002). Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Animal biotechnology*, 13(1), 29-42. doi.org/10.1081/ABIO-120005768
- Genwa, C., Gilhotra, U. K., Varma, A. K., & Rajpurohit, B. (2017). Evaluation of antiasthmatic activity of *Citrullus colocynthis* fruit. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2), 716. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(2).716-21
- Gidenne, T., Lebas, F., & Fortun–Lamothe, L. (2010). 13 Feeding Behaviour of Rabbits. *Nutrition of the Rabbit*, 233.
- Gidenne, T., & Fortun–Lamothe, L. (2002). Feeding strategy for young rabbits around weaning: a review of digestive capacity and nutritional needs. *Animal science*, 75(2), 169-184. doi:10.1017/S1357729800052942
- Grădinaru, A. C., Trifan, A., Şpac, A., Brebu, M., Miron, A., & Aprotosoia, A. C. (2018). Antibacterial activity of traditional spices against lower respiratory tract pathogens: combinatorial effects of *Trachyspermum ammi* essential oil with conventional antibiotics. *Letters in applied microbiology*, 67(5), 449-457. doi:10.1111/lam.13069
- Grebenstein, N., Schumacher, M., Graeve, L., & Frank, J. (2014).  $\alpha$ -Tocopherol transfer protein is not required for the discrimination against  $\gamma$ -tocopherol in vivo but protects it from side–chain degradation in vitro. *Molecular nutrition & food research*, 58(5), 1052-1060.

- Grosso, G., Bei, R., Mistretta, A., Marventano, S., Calabrese, G., Masuelli, L., ... & Gazzolo, D. (2013). Effects of vitamin C on health: a review of evidence. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 18(3), 1017-1029. DOI: 10.2741/4160
- Hajji, H., Joy, M., Ripoll, G., Smeti, S., Mekki, I., Gahete, F. M., ... & Atti, N. (2016). Meat physicochemical properties, fatty acid profile, lipid oxidation and sensory characteristics from three North African lamb breeds, as influenced by concentrate or pasture finishing diets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 48, 102-110. doi.org/10.1016/j.jfca.2016.02.011 0889-1575/
- Hameed, B., Ali, Q., Hafeez, M. M., & Malik, A. (2020). Antibacterial and antifungal activity of fruit, seed and root extracts of *Citrullus colocynthis* plant. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2020(1), e033-e033. doi.org/10.47264/bcsrj0101033
- Hara, H. (2002). Physiological effects of short-chain fatty acid produced from prebiotics in the colon. *Bioscience and microflora*, 21(1), 35-42. doi.org/10.12938/bifidus1996.21.35
- Hashemi, S. R., Davoodi, H. (2011). Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary research communications*, 35(3), 169-180. doi.org/10.1007/s11259-010-9458-2
- Hassan, F. U., Ebeid, H. M., Tang, Z., Li, M., Peng, L., Peng, K., ... & Yang, C. (2020). A Mixed Phytogetic Modulates the Rumen Bacteria Composition and Milk Fatty Acid Profile of Water Buffaloes. *Frontiers in veterinary science*, 7, 569. doi.org/10.3389/fvets.2020.00569
- Herrera, E., & Barbas, C. (2001). Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of physiology and biochemistry*, 57(1), 43-56. doi.org/10.1007/BF03179812
- Hosomi, A., Arita, M., Sato, Y., Kiyose, C., Ueda, T., Igarashi, O., ... & Inoue, K. (1997). Affinity for  $\alpha$ -tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS letters*, 409(1), 105-108. doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00499-7
- Hossain, M. S., Faruk, M. A. Z., Das, D., & Das, S. (2021). Effects of Neem (*Azadirachta indica*) and Tulsi (*Ocimum sanctum*) Extract in the Growth Performance of Broiler with Economics of Production. *J Vet Med Animal Sci*, 4(1), 1066.

- Huang, C.-Z., Tung, Y.-T., Hsia, S. -M., Wu, C. -H., & Yen, G. -C. (2017). The hepatoprotective effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in SD rats. *Food & Function*, 8(2), 842–850. doi:10.1039/c6fo01585A
- Hundal, J. S., Wadhwa, M., Singh, J., Dhanoa, J. K., & Kaur, H. (2020). Potential of *Citrullus colocynthis* as herbal feed additive for ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*, 90(2), 244-248. doi.org/10.3389/fvets.2020.00550
- Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z., Chatha, S. A., Sarker, S. D., & Gilani, A. H. (2014). *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 54-66. doi.org/10.1016/j.jep.2014.06.011
- Irchhaiya, D. R. (2015). Anumalik yadav, Nitika Gupta, Swadesh Kumar, Nikhil Gupta, Santosh Kumar, Vinay Yadav, Anuj Prakash2 & Himanshu Gurjar. Metabolites in plants and its classification. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 287-305.
- Irías-Mata, A., Sus, N., Flory, S., Stock, D., Woerner, D., Podszun, M., & Frank, J. (2018).  $\alpha$ -Tocopherol transfer protein does not regulate the cellular uptake and intracellular distribution of  $\alpha$ -and  $\gamma$ -tocopherols and -tocotrienols in cultured liver cells. *Redox biology*, 19, 28-36.
- Irlbeck, N. A. (2001). How to feed the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) gastrointestinal tract. *Journal of animal science*, 79(suppl\_E), E343-E346. doi.org/10.2527/jas2001.79E-SupplE343x
- Islas, J. F., Acosta, E., Zuca, G., Delgado-Gallegos, J. L., Moreno-Treviño, M. G., Escalante, B., & Moreno-Cuevas, J. E. (2020). An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *Journal of Functional Foods*, 74, 104171. doi.org/10.1016/j.jff.2020.104171
- Jalill, A., DH, R., & Ali, A. M. (2016). Stimulate the antimicrobial activity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (NPs) using methanol extract of *Citrullus colocynthis*. *Sch. Acad. J. Pharm*, 5(8), 326-332. DOI: 10.21276/sajp.2016.5.8.3
- Jiang, H., Wang, Z., Ma, Y., Qu, Y., Lu, X., Guo, H., & Luo, H. (2015). Effect of dietary lycopene supplementation on growth performance, meat quality, fatty acid profile and meat lipid

oxidation in lambs in summer conditions. *Small Ruminant Research*, 131, 99-106. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.08.017

Johnson–Delaney, C. A., & Orosz, S. E. (2009). The Gastrointestinal System: Exotic Companion Mammals. In Association of Exotic Mammal Veterinarians 2009 *Conference Proceedings* (p. 25).

Johnson–Delaney, C. A. (2006). Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. In *Proc. Assoc. Avian Vet* (pp. 9-17).

José, C. G., Jacob, R. H., Pethick, D. W., & Gardner, G. E. (2016). Short term supplementation rates to optimise vitamin E concentration for retail colour stability of Australian lamb meat. *Meat Science*, 111, 101-109. doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.08.006

Kala, A., Kamra, D. N., Agarwal, N., & Chaudhary, L. C. (2020). Effect of a blend of commercial Ajwain (*Trachyspermum ammi*) oil and nitrate on the fermentation and microbial profile of buffalo rumen. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 20(1), 141-153. DOI: 10.5958/0974-181X.2020.00014.1

Khan, A., Ahmed, T., Rizwan, M., & Khan, N. (2018). Comparative therapeutic efficacy of *Phyllanthus emblica* (Amla) fruit extract and procaine penicillin in the treatment of subclinical mastitis in dairy buffaloes. *Microbial Pathogenesis*, 115, 8–11. doi:10.1016/j.micpath.2017.12.038

Khan, K. H. (2009). Roles of *Embllica officinalis* in medicine—A review. *Bot Res Int*, 2(4), 218-228.

Kholif, A. E., Hassan, A. A., El Ashry, G. M., Bakr, M. H., El-Zaiat, H. M., Olafadehan, O. A., ... & Sallam, S. M. A. (2020). Phytogetic feed additives mixture enhances the lactational performance, feed utilization and ruminal fermentation of Friesian cows. *Animal biotechnology*, 1-11. doi.org/10.1080/10495398.2020.1746322

Khose, K. K., Manwar, S. J., Gole, M. A., Ingole, R. S., & Rathod, P. R. (2018). Mirunalini Efficacy of Herbal Choline as a Replacement of Synthetic Choline Chloride in Diets on Growth Performance of Broilers. *Journal of Livestock Research*, 8(10), 313-322. DOI 10.5455/ijlr.20180402101714

- Khosravinia, H., Chethen, P. S., Umakantha, B., & Nourmohammadi, R. (2015). Effects of lipotropic products on productive performance, liver lipid and enzymes activity in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 3(2), 113-120.
- Kouadri, I., & Satha, H. (2018). Extraction and characterization of cellulose and cellulose nanofibers from *Citrullus colocynthis* seeds. *Industrial Crops and Products*, 124, 787-796. doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.051
- Kowsalya, M., Rajeshkumar, M. P., Velmurugan, T., Sudha, K. G., & Ali, S. (2021). Role of Vitamin E in Boosting the Immunity from Neonates to Elderly. DOI: 10.5772/intechopen.98553
- Krogdahl, Å., Hansen, A. K. G., Kortner, T. M., Björkhem, I., Krasnov, A., Berge, G. M., & Denstadli, V. (2020). Choline and phosphatidylcholine, but not methionine, cysteine, taurine and taurocholate, eliminate excessive gut mucosal lipid accumulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Aquaculture*, 528, 735552. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735552
- Krzysztof Blusztajn, J., & J Mellott, T. (2012). Choline nutrition programs brain development via DNA and histone methylation. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 12(2), 82-94. doi.org/10.2174/187152412800792706
- Kulkarni, K. V., & Ghurghure, S. M. (2018). Indian gooseberry (*Emblica officinalis*): Complete pharmacognosy review. *International Journal of Chemistry Studies*, 2(2), 5-11.
- Kumar, M., Kumar, V., Roy, D., Kushwaha, R., & Vaiswani, S. (2014). Application of herbal feed additives in animal nutrition-a review. *Int J Lives Res*, 4, 1-8. DOI 10.5455/ijlr.20141205105218
- Kumar, A., Irchhaiya, R., Yadav, A., Gupta, N., Kumar, S., Gupta, N., ... & Gurjar, H. (2015). Metabolites in plants and its classification. *World J Pharm Pharm Sci*, 4(1), 287-305.
- Kumar, S., Kumar, D., Yadav, P. K., Bal, L. M., & Singh, B. P. (2018). Amla as phyto-genic feed additive for efficient livestock production. *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 7(4), 1030-1036

- Lakshmi, V., Mahdi, A. A., Sharma, D., & Agarwal, S. K. (2018). An Overview of *Achyranthes aspera* Linn. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 7(1), 27-29.
- Lane, D. J., & Richardson, D. R. (2014). The active role of vitamin C in mammalian iron metabolism: much more than just enhanced iron absorption!. *Free radical biology and medicine*, 75, 69-83. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.007
- Lebas, F., Coudert, P., Rouvier, R., & De Rochambeau, H. (1997). The Rabbit: husbandry, health, and production. Rome: Food and Agriculture organization of the United Nations.
- Lebas, F. (1983). Small-scale rabbit production. Feeding and management systems. *World Animal Review*, 46, 11-17.
- Lee, G. Y., & Han, S. N. (2018). The role of vitamin E in immunity. *Nutrients*, 10(11), 1614. doi.org/10.3390/nu10111614
- Lewis, E. D., Meydani, S. N., & Wu, D. (2019). Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. *IUBMB life*, 71(4), 487-494. DOI 10.1002/iub.1976
- Lhermie, G., Gröhn, Y. T., & Raboisson, D. (2017). Addressing antimicrobial resistance: an overview of priority actions to prevent suboptimal antimicrobial use in food-animal production. *Frontiers in microbiology*, 7, 2114. doi.org/10.3389/fmicb.2016.02114
- Li, M., Hassan, F. U., Tang, Z., Peng, L., Liang, X., Li, L., ... & Yang, C. (2020). Mulberry leaf flavonoids improve Milk production, antioxidant, and metabolic status of water buffaloes. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. doi.org/10.3389/fvets.2020.00599
- Li, H., Wang, H., Yu, L., Wang, M., Liu, S., Sun, L., & Chen, Q. (2015). Effects of supplementation of rumen-protected choline on growth performance, meat quality and gene expression in longissimus dorsi muscle of lambs. *Archives of animal nutrition*, 69(5), 340-350. doi.org/10.1080/1745039X.2015.1073001
- Li, B., Li, W., Ahmad, H., Zhang, L., Wang, C., & Wang, T. (2015). Effects of choline on meat quality and intramuscular fat in intrauterine growth retardation pigs. *Plos one*, 10(6), 1-13. doi.org/10.1371/journal.pone.0129109

- Li, W., Li, B., Lv, J., Dong, L., Zhang, L., & Wang, T. (2018). Choline supplementation improves the lipid metabolism of intrauterine-growth-restricted pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(5), 686. doi: 10.5713/ajas.15.0810
- Lipiński, K., Antoszkiewicz, Z., Kotlarczyk, S., Mazur-Kuśnirek, M., Kaliniewicz, J., & Makowski, Z. (2019). The effect of herbal feed additive on the growth performance, carcass characteristics and meat quality of broiler chickens fed low-energy diets. *Archives Animal Breeding*, 62(1), 33-40. doi.org/10.5194/aab-62-33-2019
- Liu, Q., Wang, Y. -F., Chen, R. -J., Zhang, M. -Y., Wang, Y. -F., Yang, C. -R., & Zhang, Y. -J. (2009). Anti-Coxsackie Virus B3 Norsesquiterpenoids from the Roots of *Phyllanthus emblica*. *Journal of Natural Products*, 72(5), 969-972. doi:10.1021/np800792d
- Liu, X., Klinkhamer, P. G. L., & Vrieling, K. (2017). The effect of structurally related metabolites on insect herbivores: A case study on pyrrolizidine alkaloids and western flower thrips. *Phytochemistry*, 138, 93–103. doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.027
- Liu, X., Vrieling, K., & Klinkhamer, P. G. L. (2017). Interactions between Plant Metabolites Affect Herbivores: A Study with Pyrrolizidine Alkaloids and Chlorogenic Acid. *Frontiers in Plant Science*, 8, 903. doi.org/10.3389/fpls.2017.00903
- Liu, L., Xu, Y., & Xu, X. (2018). Effect of supplementation with two combinations of alternative to antimicrobials by stages on cecal fermentation in rabbits. *Czech Journal of Animal Science*, 63(10), 419-427. doi.org/10.17221/121/2017-CJAS
- Lossi, L., D'Angelo, L., De Girolamo, P., & Merighi, A. (2016). Anatomical features for an adequate choice of experimental animal model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig. *Annals of Anatomy–Anatomischer Anzeiger*, 204, 11-28. doi.org/10.1016/j.aanat.2015.10.002
- Lustri, B. C., Sperandio, V., & Moreira, C. G. (2017). Bacterial chat: intestinal metabolites and signals in host–microbiota–pathogen interactions. *Infection and immunity*, 85(12), e00476-17. doi.org/10.1128/iai.00476-17
- Madhupriya, V., Shamsudeen, P., Manohar, G. R., Senthilkumar, S., Soundarapandiyam, V., & Moorthy, M. (2018). Phyto feed additives in poultry nutrition–A review. *Int J Sci Environ Technol*, 7(3), 815-22.

- Maiorano, G., Cavone, C., McCormick, R. J., Ciarlariello, A., Gambacorta, M., & Manchisi, A. (2007). The effect of dietary energy and vitamin E administration on performance and intramuscular collagen properties of lambs. *Meat Science*, 76(1), 182-188. doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.11.001
- Malik, K., Bashir, H., Bilal, M., Qamar, H., & Mehmood, Z. (2016). In vitro evaluation of synergistic antimicrobial activity of *Trachyspermum ammi* and *Syzygium aromaticum*. *Int. J. Biosci.* 9(4),221-228. doi.10.12692/ijb/9.4.221-228
- Martínez–Aispuro, J. A., Mendoza, G. D., Cordero–Mora, J. L., Ayala-Monter, M. A., Sánchez–Torres, M. T., Figueroa–Velasco, J. L., ... & Gloria–Trujillo, A. (2019). Evaluation of an herbal choline feed plant additive in lamb feedlot rations. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48. 9. doi.org/10.1590/rbz4820190020
- Matosz, B., Dezdrobotu, C., Martonos, C., Luca, V., & Damian, A. (2017). Topography of the major salivary glands in rabbits. *Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine*, 63(2), 11-14.
- Meglia, G. E., Jensen, S. K., Lauridsen, C., & Waller, K. P. (2006). [alpha] –Tocopherol concentration and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural or synthetic vitamin E around calving. *The Journal of dairy research*, 73(2), 227. doi:10.1017/S0022029906001701
- Mehmood, M. H., Siddiqi, H. S., & Gilani, A. H. (2011). The antidiarrheal and spasmolytic activities of *Phyllanthus emblica* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and Ca<sub>2</sub><sup>+</sup> channels. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 856–865. doi:10.1016/j.jep.2010.11.023
- Mehmood, M. H., Rehman, A., Rehman, N., & Gilani, A.-H. (2012). Studies on Prokinetic, Laxative and Spasmodic Activities of *Phyllanthus emblicain* Experimental Animals. *Phytotherapy Research*, 27(7), 1054–1060. doi:10.1002/ptr.4821
- Mendoza– Martínez G.D., Martínez-García J.A., Hernández-García P.A. y Lee-Rangel H.A. (2018). Uso de productos herbales nutracéuticos en la alimentación de rumiantes. XLV reunión de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria

- A.C. (AMPA). Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) 69.
- Minardi, P., Mordenti, A. L., Badiani, A., Pirini, M., Trombetti, F., & Albonetti, S. (2020). Effect of dietary antioxidant supplementation on rabbit performance, meat quality and oxidative stability of muscles. *World Rabbit Science*, 28(3), 145-159. doi.org/10.4995/wrs.2020.12273
- Mirman D, 2014. Growth curve analysis and visualization using R. Chapman & Hall/CRC The R Series. CRC Press. Boca Raton, FL. 170.
- Mirunalini, S., & Krishnaveni, M. (2010). Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 21(1). doi:10.1515/jbcpp.2010.21.1.93
- Miśta, D., Króliczewska, B., Marounek, M., Pecka, E., Zawadzki, W., & Nicpoń, J. (2015). In vitro study and comparison of caecal methanogenesis and fermentation pattern in the brown hare (*Lepus europaeus*) and domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *PloS one*, 10(1), e0117117. doi.org/10.1371/journal.pone.0117117
- Moein, M. R., Zomorodian, K., Pakshir, K., Yavari, F., Motamedi, M., & Zarshenas, M. M. (2015). *Trachyspermum ammi* (L.) sprague: chemical composition of essential oil and antimicrobial activities of respective fractions. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 20(1), 50-56. DOI: 10.1177/215658
- Montagne, L., Pluske, J. R., & Hampson, D. J. (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal feed science and technology*, 108(1-4), 95-117.
- Muthusamy, N., Sankar, V., & Sheep, M. (2015). Phytogetic compounds used as a feed additives in poultry production. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 4(1), 167-171.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, M., Ghorbani, A. (2010). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 63-79.

- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M. D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84(1), 23-29. doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.001
- Nieto, G. (2017). Biological Activities of Three Essential Oils of the Lamiaceae Family. *Medicines*, 4(3), 63. doi.org/10.3390/medicines4030063
- NRC, 1977. Nutrient Requirements of Rabbits. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Obata, T. (2019). Metabolons in plant primary and secondary metabolism. *Phytochemistry Reviews*. doi:10.1007/s11101-019-09619-x
- Ortega-Álvarez, N. I., Mendoza, G.D., Martínez García, J. A., Bárcena Gama, R., & Buendía-Rodríguez, G. (2020). Impact of a Polyherbal Mixture (*Withania somnifera*, *Ocimum sanctum*, *Tinospora cordifolia* and *Emblica officinalis*) on Lamb Growth and Ruminal Fermentation. *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 40-46.
- Packirisamy, R. M., Bobby, Z., Panneerselvam, S., Koshy, S. M., & Jacob, S. E. (2018). Metabolomic analysis and antioxidant effect of amla (*Emblica officinalis*) extract in preventing oxidative stress-induced red cell damage and plasma protein alterations: an in vitro study. *Journal of medicinal food*, 21(1), 81-89. doi.org/10.1089/jmf.2017.3942
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Patil, D. A., Rasve, V. R., Ahemad, S. S., Shirsat, M. K., & Manke, M. B. (2018). Phytochemical analysis of methanolic extract of *Emblica officinalis* leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(11), 970-978. DOI: 10.20959/wjpps201811-12493.
- Pehlivan, F. E. (2017). Vitamin C: An Antioxidant Agent. Vitamin C. doi:10.5772/intechopen.69660
- Peiretti, P. G., Meineri, G. (2008). Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science*, 80 (4), 1116-112. doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.003

- Pesavento, G., Calonico, C., Bilia, A. R., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., Mencarelli, L., Carmagnini, L., Di Martino, M. C., Lo Nostro, A. (2015). Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*, 54, 188-199. doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.045
- Petrič, D., Mravčáková, D., Kucková, K., Kišidayová, S., Cieslak, A., Szumacher-Strabel, M., ... & Váradyová, Z. (2021). Impact of Zinc and/or Herbal Mixture on Ruminal Fermentation, Microbiota, and Histopathology in Lambs. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. doi.org/10.3389/fvets.2021.630971
- Pinotti, L., Baldi, A., & Dell'Orto, V. (2002). Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. *Nutrition Research Reviews*, 15(02), 315. doi:10.1079/nrr200247
- Plevin, D., & Galletly, C. (2020). The neuropsychiatric effects of vitamin C deficiency: a systematic review. *BMC psychiatry*, 20(1), 1-9. doi.org/10.1186/s12888-020-02730-w
- Pourhossein, Z., Qotbi, A. A. A., Seidavi, A., Laudadio, V., Centoducati, G., & Tufarelli, V. (2015). Effect of different levels of dietary sweet orange (*Citrus sinensis*) peel extract on humoral immune system responses in broiler chickens. *Animal Science Journal*, 86(1), 105-110. doi.org/10.1111/asj.12250
- Qian, Z. H. O. U., WANG, S. S., Guang, Y. A. N. G., Wen, Z. H. A. O., & LI, H. L. (2016). Development and evaluation of a herbal formulation with anti-pathogenic activities and probiotics stimulatory effects. *Journal of integrative agriculture*, 15(5), 1103-1111. doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61146-7
- Ratajczak, A. E., Szymczak-Tomczak, A., Skrzypczak-Zielińska, M., Rychter, A. M., Zawada, A., Dobrowolska, A., & Krela-Kaźmierczak, I. (2020). Vitamin C deficiency and the risk of osteoporosis in patients with an inflammatory bowel disease. *Nutrients*, 12(8), 2263. doi.org/10.3390/nu12082263
- Razo-Ortiz, P. B., Mendoza Martínez, G. D., Silva, G. V., Osorio Teran, A. I., González Sánchez, J. F., Hernández García, P. A., ... & Espinosa Ayala, E. (2020). Polyherbal feed additive for

lambs: Effects on performance, blood biochemistry and biometry. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 419-424. doi.org/10.1080/09712119.2020.1814786

Reda, F. M., Alagawany, M., Mahmoud, H. K., Mahgoub, S. A., & Elnesr, S. S. (2020). Use of red pepper oil in quail diets and its effect on performance, carcass measurements, intestinal microbiota, antioxidant indices, immunity and blood constituents. *Animal*, 14(5), 1025-1033. doi:10.1017/S1751731119002891

Reddy, P. R. K., Elghandour, M. M. M. Y., Salem, A. Z. M., Yayaswini, D., Reddy, P. P. R., Reddy, A. N., & Hyder, I. (2020). Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. *Animal Feed Science and Technology*, 264, 114469. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114469

Reddy, V. R. (2014). BioCholine as a source of choline for poultry. *Indian Journal of Poultry Science*, 49(2), 127-131.

Rey, A. I., Segura, J., Olivares, A., Cerisuelo, A., Piñeiro, C., & López-Bote, C. J. (2015). Effect of micellized natural (D- $\alpha$ -tocopherol) vs. synthetic (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate) vitamin E supplementation given to turkeys on oxidative status and breast meat quality characteristics. *Poultry science*, 94(6), 1259-1269. doi.org/10.3382/ps/pev091

Reyes-Camacho, D., Vinyeta, E., Pérez, J. F., Aumiller, T., Criado, L., Palade, L. M., ... & Solà-Oriol, D. (2020). Phytogetic actives supplemented in hyperprolific sows: effects on maternal transfer of phytogetic compounds, colostrum and milk features, performance and antioxidant status of sows and their offspring, and piglet intestinal gene expression. *Journal of animal science*, 98(1), skz390.

Rizvi, S., Raza, S. T., Faizal Ahmed, A. A., Abbas, S., & Mahdi, F. (2014). The role of vitamin E in human health and some diseases. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 14(2), e157.

Rodríguez-Guerrero, V., Lizarazo, A. C., Ferraro, S., Suárez, N., Miranda, L. A., & Mendoza, G. D. (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), 427-434.

Rowe, S., & Carr, A. C. (2020). Global vitamin C status and prevalence of deficiency: a cause for concern?. *Nutrients*, 12(7), 2008. doi:10.3390/nu12072008

- Ruckebusch, Y., & Hörnicke, H. (1977). Motility of the rabbit's colon and cecotrophy. *Physiology & behavior*, 18(5), 871-878.
- Sahin, N., Sahin, K., Onderci, M., Karatepe, M., Smith, M. O., & Kucuk, O. (2006). Effects of dietary lycopene and vitamin E on egg production, antioxidant status and cholesterol levels in Japanese quail. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(2), 224-230.
- Salajegheh, A., Salarmoni, M., Afsharmanesh, M., & Salajegheh, M. H. (2018). Growth performance, intestinal microflora, and meat quality of broiler chickens fed lavender (*Lavandula angustifolia*) powder. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 6(1), 31-38. DOI: 10.22103/jlst.2018.10340.1195
- Selvam, R., Saravanakumar, M., Suresh, S., Chandrasekeran, C. V., & Prashanth, D. S. (2018). Evaluation of polyherbal formulation and synthetic choline chloride on choline deficiency model in broilers: implications on zootechnical parameters, serum biochemistry and liver histopathology. *Asian–Australasian journal of animal sciences*, 31(11), 1795. doi: 10.5713/ajas.18.0018
- Shah, A. A., Khan, M. S., Khan, S., Ahmad, N., Alhidary, I. A., Khan, R. U., & Shao, T. (2016). Effect of different levels of alpha tocopherol on performance traits, serum antioxidant enzymes, and trace elements in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) under low ambient temperature. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(10), 622-626. 2016. doi.org/10.1590/S1806-92902016001000007
- Sharma, J., Kumar, N., Singh, S. P., Singh, A., HariKrishna, V., & Chakrabarti, R. (2019). Evaluation of immunostimulatory properties of prickly chaff flower *Achyranthes aspera* in rohu *Labeo rohita* fry in pond conditions. *Aquaculture*, 505, 183-189. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.065
- Simitzis, P. E., Babaliaris, C., Charismiadou, M. A., Papadomichelakis, G., Goliomytis, M., Symeon, G. K., & Deligeorgis, S. G. (2014). Effect of hesperidin dietary supplementation on growth performance, carcass traits and meat quality of rabbits. *World rabbit science*, 22(2), 113-121. doi.org/10.4995/wrs.2014.1760

- Singh, N., Mrinal, P. S., & Gupta, V. K. (2019). A Review on Pharmacological Aspects of *Achyranthes Aspera*. *Int. J. Pharmacogn Chinese Med.*, 3(4), 000188. DOI: 10.23880/ipcm-16000188
- Singh, D., & Chaudhuri, P. K. (2018). A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (*Ocimum sanctum* L.). *Industrial Crops and Products*, 118, 367-382. doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.048
- Sivasankari, S., Banu, B. J., Sadiq, A. M., & Kanagavalli, U. (2017). Phytochemical evaluation and Antioxidant potential of ethanolic leaf extract of *Achyranthes aspera*. *International Research Journal of Pharmaceutical and Biosciences*, 4(5). 15-24.
- Smirnoff, N., & Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical reviews in plant sciences*, 19(4), 267-290. doi.org/10.1080/07352680091139231
- Smirnoff, N. (2018). Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 116-129. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.033
- Soliman, W. S. E. D. (2017). Trial on using of some herbal extracts as promising immunoprophylaxis feed additives in cultured *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 48(2), 53-60. DOI: 10.21608/EJVS.2017.1446.1018
- Steel, R. G., Torrie, J. H., & Dickey, D. A. (2011). Principles and procedures of statistics. *A biometrical approach*, 3.
- Stefańska, B., Sroka, J., Katzer, F., Goliński, P., & Nowak, W. (2021). The effect of probiotics, phytobiotics and their combination as feed additives in the diet of dairy calves on performance, rumen fermentation and blood metabolites during the preweaning period. *Animal Feed Science and Technology*, 272, 114738. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114738
- Sugiharto, S. (2016). Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15(2), 99-111. doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001
- Syahidah, A., Saad, C. R., Daud, H. M., & Abdelhadi, Y. M. (2015). Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(1), 27-44.

- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089-1099. DOI: 10.4314/tjpr.v7i3.14693
- Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 43(1), 4-15. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024
- Traber, M. G. (2013). Mechanisms for the prevention of vitamin E excess. *Journal of Lipid Research*, 54(9), 2295-2306. doi.org/10.1194/jlr.R032946.
- Tripathy, S., Seth, P., & Kushtwar, R. S. (2017). *Achyranthes aspera* one of important medicinal plant of Indian Flora. *Innovat International Journal Of Medical & Pharmaceutical Sciences*, 2(3).
- Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Classification of Phenolic Compounds in Plants. *Polyphenols in Plants*, 263–284. Academic Press. doi:10.1016/b978-0-12-813768-0.00026-8
- Upadhaya, S. D., & Kim, I. H. (2017). Efficacy of phytogetic feed additive on performance, production and health status of monogastric animals—a review. *Ann. Anim. Sci*, 17(4), 929-948. DOI: 10.1515/aoas-2016-0079
- Vachhrajani, K. D., Sahu, A. P., & Dutta, K. K. (1993). Excess choline availability: A transient effect on spermatogenesis in the rat. *Reproductive Toxicology*, 7(5), 477–481. doi:10.1016/0890-6238(93)90093-m
- van der Veen, J. N., Kennelly, J. P., Wan, S., Vance, J. E., Vance, D. E., & Jacobs, R. L. (2017). The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Biomembranes*, 1859(9), 1558-1572. doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.04.006
- Vasconsuelo, A., & Boland, R. (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science*, 172(5), 861-875. doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.01.006
- Velasco, V., & Williams, P. (2011). Improving meat quality through natural antioxidants. *Chilean journal of agricultural research*, 71(2), 313.

- Velasco-Galilea, M., Piles, M., Viñas, M., Rafel, O., González-Rodríguez, O., Guivernau, M., & Sánchez, J. P. (2018). Rabbit microbiota changes throughout the intestinal tract. *Frontiers in microbiology*, 9, 2144. doi.org/10.3389/fmicb.2018.02144
- Verma, K. K., Sharma, A., Raj, H., & Kumar, B. (2021). A comprehensive review on traditional uses, chemical compositions and pharmacology properties of *Achyranthes aspera* (Amaranthaceae). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(2-S), 143-149. doi.org/10.22270/jddt.v11i2-S.4789
- Vitali, L. A., Beghelli, D., Nya, P. C. B., Bistoni, O., Cappellacci, L., Damiano, S., ... & Bramucci, M. (2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(6), 775-786. doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.002
- Vizzarri, F., Palazzo, M., D'Alessandro, A. G., & Casamassima, D. (2017). Productive performance and meat quality traits in growing rabbit following the dietary supplementation of *Lippia citriodora*, *Raphanus sativus* and *Solanum lycopersicum* extracts. *Livestock Science*, 200, 53-59. doi.org/10.1016/j.livsci.2017.04.007
- Wadhwa, M., & Bakshi, M. P. S. (2019). Effect of supplementing total mixed ration with ajwain (*Trachyspermum ammi*) oil on the performance of buffalo calves. *Indian J Ani Sci*, 89, 424-430.
- Wang, J., Su, Y., Elzo, M. A., Jia, X., Chen, S., & Lai, S. (2016). Comparison of carcass and meat quality traits among three rabbit breeds. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(1), 84. doi:10.5851/kosfa.2016.36.1.84
- Waszkiewicz-Robak, B., Obiedziński, M., Biller, E., & Obiedzińska, A. (2017). Nutraceuticals in animal nutrition and their effect on selected quality characteristics of beef. A review article. *Polish Journal of Applied Sciences*, 3(2), 73-77. doi.org/10.19260/PJAS.2017.3.2.05
- Wei-Jun Liang, Daniel Johnson & Simon M. Jarvis Wei-Jun Liang, Daniel Johnson & Simon M. Jarvis (2001) Vitamin C transport systems of mammalian cells, *Molecular Membrane Biology*, 18:1, 87-95, DOI:10.1080/09687680110033774
- Wheeler, G., Ishikawa, T., Pornsaksit, V., & Smirnov, N. (2015). Evolution of alternative biosynthetic pathways for vitamin C following plastid acquisition in photosynthetic eukaryotes. *Elife*, 4, e06369. DOI: 10.7554/eLife.06369.001

- Williamson, E. M. (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 8(5), 401-409. doi.org/10.1078/0944-7113-00060
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry 1. *Journal of animal science*, 86(14), 140-148. doi.org/10.2527/jas.2007-0459
- Wlazło, Ł., Kowalska, D., Bielański, P., Chmielowiec–Korzeniowska, A., Ossowski, M., Łukaszewicz, M., ... & Nowakowicz–Dębek, B. (2021). Effect of fermented rapeseed meal on the gastrointestinal microbiota and immune status of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Animals*, 11(3), 716. doi.org/10.3390/ani11030716
- Xiao, J., Metzler–Zebeli, B., & Zebeli, Q. (2015). Gut function–enhancing properties and metabolic effects of dietary indigestible sugars in rodents and rabbits. *Nutrients*, 7(10), 8348-8365. doi.org/10.3390/nu7105397
- Yang, H., Mahan, D. C., Hill, D. A., Shipp, T. E., Radke, T. R., & Cecava, M. J. (2009). Effect of vitamin E source, natural versus synthetic, and quantity on serum and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations in finishing swine. *Journal of animal science*, 87(12), 4057-4063. doi.org/10.2527/jas.2008-1570
- Yang, C., Chowdhury, M. A., Huo, Y., & Gong, J. (2015). Phytogenic compounds as alternatives to in–feed antibiotics: potentials and challenges in application. *Pathogens*, 4(1), 137-156. doi.org/10.3390/pathogens4010137
- Yang, C., Mi L., Hu, X., Liu J., & Wang, J. (2016). Investigation into Host Selection of the Cecal Acetogen Population in Rabbits after Weaning. *PLOS ONE*. 11(7): e0158768. doi.org/10.1371/journal.pone.0158768
- Yu, Y. B., Park, H. J., & Kang, J. C. (2020). Effects of dietary ascorbic acid on growth performance, hematological parameters, antioxidant and non–specific immune responses in starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Aquaculture Reports*, 18, 100419. doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100419
- Zeisel, S. H., & da Costa, K.-A. (2009). Choline: an essential nutrient for public health. *Nutrition Reviews*, 67(11), 615–623. doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x

- Zepeda–Bastida, A., Martínez, M. A., & Simental, S. S. (2019). Carcass and meat quality of rabbits fed *Tithonia tubaeformis* weed. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48. /doi.org/10.1590/rbz4820190074
- Zhang, M., & Jativa, D. F. (2018). Vitamin C supplementation in the critically ill: A systematic review and meta-analysis. *SAGE Open Medicine*, 6, 205031211880761. doi:10.1177/2050312118807615
- Zhou, L., Li, X., Li, S., Wen, X., Peng, Y., & Zhao, L. (2021). Relationship between dietary choline intake and diabetes mellitus in the National Health and Nutrition Examination Survey 2007- 2010. *Journal of Diabetes*, 13(7), 554-561. doi.org/10.1101/2020.08.09.20171306
- Zhu, Y., Wang, C., & Li, F. (2015). Impact of dietary fiber/starch ratio in shaping caecal microbiota in rabbits. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(10), 771-784. doi.org/10.1139/cjm-2015-0201
- Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., & Zhou, Z. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*, 196, 885-896. doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072