



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**EFFECTO DE UN COMPUESTO POLIHERBAL SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA E INMUNOLÓGICA DE BECERRAS HOLSTEIN**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

M. EN C. LUCERO ABIGAIL VELÁZQUEZ CRUZ

Centro Universitario UAEM, Amecameca, Estado de México, noviembre 2020.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EFFECTO DE UN COMPUESTO POLIHERBAL SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA E INMUNOLÓGICA DE BECERRAS HOLSTEIN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA:

M. EN C. LUCERO ABIGAIL VELÁZQUEZ CRUZ

COMITÉ DE TUTORES:

DR. PEDRO ABEL HERNÁNDEZ GARCÍA

DR. ENRIQUE ESPINOSA AYALA

DR. GERMÁN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ

Centro Universitario UAEM, Amecameca, Estado de México, noviembre 2020.

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de un compuesto polihierbal (basado en *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis*) a diferentes dosis en becerros Holstein, sobre la respuesta productiva e inmunológica. El experimento tuvo una duración de 67 días para el cual se emplearon cuarenta becerros Holstein de 20 a 25 días de edad con un peso inicial de $43.35 \text{ kg} \pm 2.41 \text{ kg}$. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en corrales individuales para su posterior asignación a cada tratamiento experimental los cuales consistían en administrar diariamente dosis orales del compuesto polihierbal (ImmuPlus, Nuproxa) a 0.0, 2.0, 3.0 y 4.0 g d^{-1} . La mejor respuesta productiva se observó con las dosis de 2 y 3 g d^{-1} , al mostrarse una respuesta cuadrática en el peso final, la ganancia diaria de peso (GDP) y la circunferencia torácica final. El consumo de alimento iniciador se redujo linealmente, sin embargo, a medida que aumentaba la dosis del compuesto polihierbal se presentó una respuesta cuadrática en la ingesta del sustituto lácteo y la conversión alimenticia. Para la GDP se estimó mediante regresión una dosis óptima del compuesto polihierbal la cual fue de $2.05 \pm 0.63 \text{ g d}^{-1}$. En la incidencia de eventos patológicos, tanto digestivos, respiratorios y óticos, así como las dosis de antibióticos no se presentó ningún efecto, no obstante, aumentaron las concentraciones de inmunoglobulinas (lineal y cuadrático). Se mostró una respuesta cuadrática en los linfocitos, los neutrófilos segmentados y de banda, así como las proteínas plasmáticas. La glucosa y la urea en sangre manifestaron una reducción lineal, en cambio la bilirrubina aumento de manera lineal con la dosificación del compuesto polihierbal. La digestibilidad aparente de la materia seca no se modificó ($P > 0.05$), no obstante, presentó una tendencia creciente al implementar en la alimentación el compuesto polihierbal. En la producción de gas *in vitro* se observaron cambios ($P < 0.05$) en el volumen máximo de producción de gas, la fase lag, la tasa de producción de gas y la degradabilidad de la materia seca. Se presentó un efecto positivo al disminuir la emisión de gas metano ($P < 0.01$) con la dosis de 3 g d^{-1} . El compuesto polihierbal a dosis de $2.05 \pm 0.63 \text{ g d}^{-1}$ a través de la alimentación mejoró la

respuesta productiva e inmunológica de becerros lactantes Holstein, obteniendo como resultado animales más sanos y una adecuada producción.

Palabras clave: Aditivo herbal alimenticio, inmunidad, antioxidantes, ganado lechero.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of a polyherbal compound (based on *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* and *Embllica officinalis*) at different doses in Holstein calves, on the productive and immunological response. The experiment lasted 67 days, for which forty Holstein calves between 20 and 25 days old were used with an initial body weight of $43.35 \text{ kg} \pm 2.41 \text{ kg}$. The animals were randomly distributed in individual pens for their subsequent assignment to each experimental treatment, which consisted of daily administering oral doses of the polyherbal compound (ImmuPlus, Nuproxa) at 0.0, 2.0, 3.0 and 4.0 g d^{-1} . The best productive response was observed with the doses of 2 and 3 g d^{-1} , showing a quadratic response in the final weight, the average daily gain (ADG) and the final thoracic circumference. The consumption of starter food was linearly reduced, however, as the dose of the polyherbal compound increased, a quadratic response was presented in the intake of the dairy substitute and the feed conversion. For the ADG, an optimal dose of the polyherbal compound was estimated by regression, which was $2.05 \pm 0.63 \text{ g d}^{-1}$. In the incidence of pathological events, both digestive, respiratory and otic, as well as the doses of antibiotics, there was no effect, however, immunoglobulin concentrations increased (linear and quadratic). A quadratic response was shown in lymphocytes, segmented and band neutrophils, as well as plasma proteins. Glucose and urea in blood showed a linear reduction, whereas bilirubin increased linearly with the dosage of the polyherbal compound. The apparent digestibility of the dry matter did not change ($P > 0.05$), however, it presented an increasing trend when implementing the polyherbal compound in the diet. In *in vitro* gas production, changes ($P < 0.05$) were observed in the maximum gas production volume, the lag phase, the gas production rate, and the degradability of the dry matter. A positive effect was presented by reducing the emission of methane gas ($P < 0.01$) with the dose of 3 g d^{-1} . The polyherbal compound at doses of $2.05 \pm 0.63 \text{ g d}^{-1}$ through feeding improved the productive and immunological response of lactating Holstein calves, resulting in healthier animals and adequate production.

Key words: Phytogetic feed additive, immunity, antioxidants, dairy cattle.

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	iii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Importancia de la ganadería bovina lechera en México.....	4
2.2. Sistemas de producción de bovinos lecheros.....	4
2.3. Sistema de crianza en los sistemas especializados.....	5
2.3.1. Reemplazos.....	7
2.3.2. Calostreo.....	7
2.3.2.1. Inmunología de las becerras.....	9
2.3.2.2. Desarrollo embrionario y placentario.....	9
2.3.2.3. Transferencia de inmunidad pasiva.....	10
2.3.2.4. Desarrollo del sistema inmune.....	13
2.3.3. Principales patologías.....	15
2.3.4. Medicina preventiva tradicional y alternativa.....	17
2.4. Plantas con metabolitos utilizadas como herramienta terapéutica.....	18
2.4.1. Compuestos poliherbales.....	21
2.4.1.1. <i>Emblica officinalis</i>	24
2.4.1.2. <i>Tinospora cordifolia</i>	26
2.4.1.3. <i>Withania somnifera</i>	26
2.4.1.4. <i>Ocimum tenuiflorum</i>	27
3. JUSTIFICACIÓN.....	28
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	29
5. HIPÓTESIS.....	30
6. OBJETIVOS.....	31
6.1. Objetivo general.....	31
6.2. Objetivos específicos.....	31
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32

7.1.	Animales y tratamientos.....	32
7.2.	Crecimiento y salud animal	33
7.3.	Concentración de inmunoglobulinas en sangre.....	33
7.4.	Parámetros hematológicos.....	34
7.5.	Producción de gas <i>in vitro</i>	34
7.6.	Análisis estadístico.....	35
8.	RESULTADOS	36
8.1.	Artículo científico	37
8.2.	Artículo de divulgación científica	39
8.3.	Capítulo de libro	41
9.	CONCLUSIONES GENERALES.....	43
10.	SUGERENCIAS.....	44
11.	LITERATURA CITADA	45

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de leche especializados en México cuentan con ganado de alto mérito genético, así como con equipos e infraestructura tecnificada, tales atributos permiten alcanzar altos niveles de producción y así generar beneficios en términos económicos (Vilaboa y Díaz, 2009), para lograr objetivos de alta (productividad y eficiencia económica) es de relevancia seguir mejorando la genética de los reemplazos, motivo preponderante la recria, dicha actividad determina la renovación o el reemplazo del hato productor, por lo que la disponibilidad de becerras en cantidad y calidad, establecerá el futuro de cualquier sistema de producción lechera (SAGARPA, 2014).

El crecimiento exitoso de las becerras depende de la combinación de factores relacionados, primordialmente, salud, manejo y nutrición (Heinrichs *et al.*, 1995), por tal motivo es necesario dedicar atención en la etapa de lactación, ya que además de ser el periodo que abarca los primeros dos meses de vida, las becerras dependerán de la alimentación líquida y el inicio de la alimentación con sólidos, teniendo en consideración que las becerras a esta edad aún no son rumiantes y no tienen los mecanismos para la digestión de los carbohidratos estructurales, además de ser una etapa crítica debido a la falta de un sistema inmunológico maduro y factores de estrés pueden predisponer a la alta incidencia de morbilidad y mortalidad de trastornos digestivos y respiratorios (Bombik *et al.*, 2012; Soberon *et al.*, 2012), por lo que la transferencia pasiva de inmunidad es fundamental para mantener la salud y lograr el desarrollo de los futuros reemplazos (Donovan *et al.*, 1998; Weaver *et al.*, 2000; Ishihara *et al.*, 2001; Franklin *et al.*, 2003).

Las patologías más frecuentes en la etapa de lactación son diarreas osmóticas o infecciosas, lo que da como resultado deshidrataciones (USDA, 2010) y la muerte, se estima que el 56% de la mortalidad se debe a problemas digestivos, sin embargo, los animales que sobreviven a procesos diarreicos en ocasiones presentan síndrome de mala absorción derivado de las lesiones en el epitelio intestinal, por consecuencia, estas no alcanzan las ganancias de peso, estatura y condición

corporal adecuado a primer servicio, representando esto pérdidas al sistema de producción (Timmerman *et al.*, 2005).

Para disminuir la morbilidad y mortalidad en becerras de recría, se deben realizar manejos como el adecuado calostreo en las primeras horas de vida, la aplicación de vacunas que favorezcan la inmunidad específica, evitar estrés, así como proporcionar una alimentación acorde a la etapa fisiológica, aunado a la adición de promotores de crecimiento como probióticos, prebióticos e inmunoestimulantes, en este sentido recientemente se han empleado compuestos naturales con alto potencial antioxidante e inmunoestimulante que favorecen la inmunidad inespecífica y el adecuado funcionamiento celular (Bombik *et al.*, 2012), además de sustituir o minimizar el uso de productos químicos como antibióticos, los cuales han sido prohibidos cada vez más por la Organización Mundial de la Salud (Hassan y Abdel-Raheem, 2013).

La utilización de alternativas mediante aditivos alimenticios es de suma importancia para incrementar la respuesta inmunológica en las becerras (Li *et al.*, 2016), además de favorecer la adecuada microbiota ruminal e intestinal, para fortalecer el funcionamiento del tracto gastrointestinal (De Filippo *et al.*, 2010). Existen numerosos estudios que muestran los efectos benéficos de las hierbas y extractos en rumiantes, básicamente, en el consumo de alimento, el crecimiento de las crías, de las funciones inmune y de salud, así como en la ingesta de alimento, fermentación ruminal en vaquillas, vacas lecheras y ganado de carne (Wawrzyńczak *et al.*, 2000 ; Kraszewski *et al.*, 2002; Cardozo *et al.*, 2005), así como también hay informes positivos que usan suplementos de plantas en ovejas y cabras (Butler *et al.*, 2000, Cedillo *et al.*, 2014).

En este escenario, los productos a base de hierbas pueden desempeñar un papel como aditivos de alimento en los concentrados iniciadores para becerras, es el caso del uso de diversas fórmulas de hierbas ricas en compuestos fenólicos, antioxidantes y con potencial inmunoestimulante, que incrementan la producción mediante la preservación de la salud (Bhargava y Singh, 1981; Chauhan, 1999), los cuales tienen nulos o pocos efectos secundarios durante el uso de las hierbas sobre

la salud animal (Kumari *et al.*, 2007). Tal es el caso de la mezcla de hierbas como, *Withania Somnifera* y *Emblica officinalis*, *Ocimum tenuiflorum*, y *Tinospora cordifolia* (Kumari *et al.*, 2004; Dhote *et al.*, 2005; Okonkwo *et al.*, 2015), dicho compuesto polihierbal incrementa la respuesta inmune inespecífica, debido a sus propiedades inmunomoduladoras (Bhattacharya *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2003), además de contener un poderoso efecto antioxidante y ahorrador de corticosteroides, al ser una fuente significativa polifenoles y flavonoides (Ames *et al.*, 1993; Cecchini *et al.* 2014).

El uso del compuesto polihierbal (*Withania Somnifera* y *Emblica officinalis*, *Ocimum tenuiflorum*, y *Tinospora cordifolia*) ha demostrado que su inclusión en la dieta mejora la ingesta y la ganancia diaria de peso (Pulido *et al.*, 2019). Así mismo se ha empleado en dietas de cabra en combinación con un coccidiostático (Zycox) mostrando un aumento de peso (Roy *et al.*, 2003). Das *et al.* (2003) informaron sobre el uso del dicho compuesto polihierbal en el ganado lechero indicando que ayuda en la prevención y en el tratamiento de la mastitis clínica, mejorando los niveles de IgG. Este producto herbario se ha usado en el tratamiento de tumores mamarios caninos y se ha demostrado que actúa como un buen fármaco inmunomodulador en la quimioterapia del cáncer (Maiti *et al.*, 2009).

Por lo que dicho compuesto polihierbal puede ser una alternativa mediante la alimentación ya que contiene compuestos polifenólicos, los cuales ayudan a la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas, mostrando un efecto sobre el equilibrio de la microbiota intestinal y su efecto en la prevención de enfermedades digestivas y respiratorias en becerras (Ahn *et al.*, 1991), además de contener grandes cantidades de flavonoides, glucosinolatos y otros metabolitos secundarios de las plantas, los cuales pueden modificar la función fisiológica y química del tracto digestivo, lo que llevaría a la estimulación del apetito y la ingesta de alimento, la mejora de la secreción endógena de la enzima digestiva, la activación de la respuesta inmune y las acciones antibacterianas, antivirales, antioxidantes y antihelmínticas (Bombik *et al.*, 2012).

2. ANTECEDENTES

2.1. Importancia de la ganadería bovina lechera en México

En 2018, México ocupó la octava posición en la producción mundial de leche, por lo que de dos de cada cien toneladas que se producen en el mundo son de origen mexicano (SIAP, 2019a). Por lo que en México la ganadería bovina lechera ocupa un valor sumamente importante dentro de la rama de la industria de alimentos, tal es el caso que es la tercera actividad de importancia, económica y social del sector primario, lo cual esta actividad de sector lácteo es cada vez mayor, sin embargo, su crecimiento depende de la disponibilidad de la leche nacional, (SE., 2012).

La producción nacional de leche, para el 2018, fue de 12,005,693 toneladas, siendo los estados productivos más importantes Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua con una producción de 2,433,017, 1,353,017, 1,223,818 y 1,128,405 toneladas respectivamente. Cabe destacar, que los estados de Coahuila y Durango se encuentran ubicados en la Región Lagunera, la cual ocupa el primer lugar en producción a nivel nacional, siendo la más importante cuenca lechera del ya que contribuye con alrededor del 20% de la producción nacional con más de 2 mil 448 millones de litros anuales, además del crecimiento económico, generación de empleos e integración social regional que se ha generado país (SIAP, 2019b).

2.2. Sistemas de producción de bovinos lecheros

La ganadería lechera de México se encuentra distribuida en diferentes regiones agroecológicas y cuencas lecheras (Magaña *et al.*, 2006), mismas que se clasifican en sistemas de producción los cuales presentan una diversidad de condiciones, entre los factores que van determinando su economía productiva se encuentran el grado de tecnificación (intensificación, niveles y costos de producción), la utilización del tipo de razas lecheras, las cuales van desde especializadas a cruza, la alimentación del ganado y las condiciones climáticas, los cuales dependerán del tipo de suelo, la disponibilidad de agua y los recursos ambientales (SE., 2012).

La economía y el nivel productivo son los principales criterios para clasificar los sistemas de producción de bovinos en México, obteniendo así en cuatro sistemas: traspatio o familiar, doble propósito o semi-especializado e intensivo o especializado (Figura 1), con un aporte de producción lechera nacional del 9.8, 18.3, 21.3 y 50.6% respectivamente (SAGARPA, 2012).

2.3. Sistema de crianza en los sistemas especializados

Los sistemas de producción especializados en México, cuentan con ganado con características de alto merito genético, así como su tecnificación, por lo que sus niveles de producción generan gran importancia económica (Vilaboa y Díaz, 2009), es por ello que la operación más trascendente probablemente en una ganadería lechera es la cría de becerras de remplazo, también conocidos como sistemas de crianza, es la actividad que determina la renovación o el remplazo del hato productor, ya que la disponibilidad de becerras en cantidad y calidad, establecerá el futuro de cualquier explotación lechera (SAGARPA, 2014).

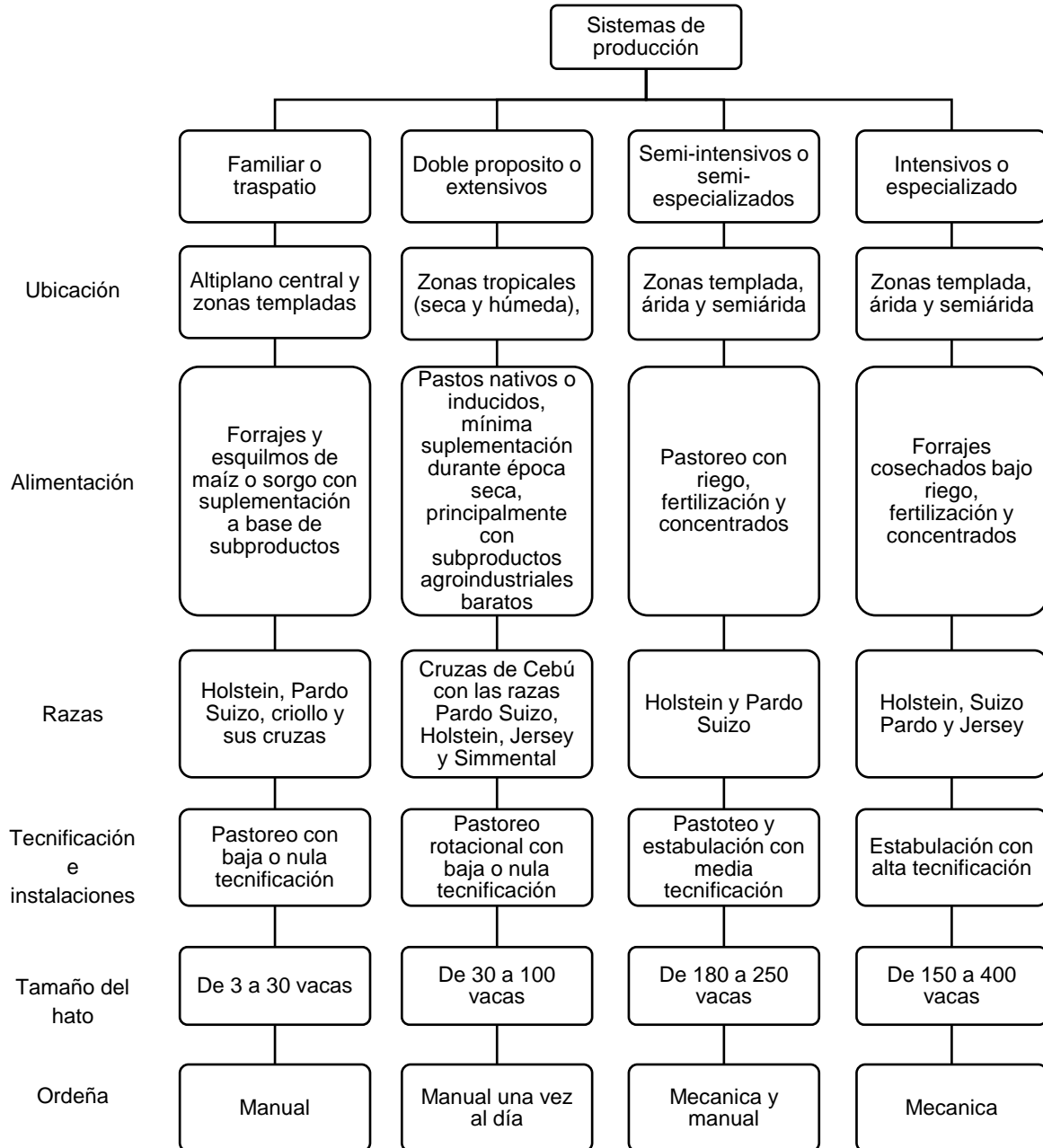


Figura 1. Sistemas productivos de bovinos lecheros en México, adaptado de Magaña *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2013; SAGARPA, 2012; FAO, 2017.

2.3.1. Reemplazos

La cría de becerras para reemplazos es de suma importancia en el mantenimiento y expansión del hato lechero, ya que son aquellos animales que por condiciones de selección servirán para sustituir a las vacas productoras que son excluidas del hato, así como también, utilizadas para ampliar la población del establo (Aguilar *et al.*, 2002). Entre los principales objetivos de la cría de becerras es el incremento de los niveles de producción del hato, aumento en la posibilidad de desechar vacas poco productoras, reconocimiento del valor genético de las becerras de reemplazo, control de los programas de crianza, así como la disminución de la introducción de enfermedades del exterior al establo, por lo que es de suma importancia desarrollar sistemas de manejo y alimentación que aseguren la salud, un óptimo crecimiento y una rápida madurez sexual la cual permitirá gestaciones a los 15 meses de edad (Heinrichs *et al.*, 1995; SAGARPA, 2014).

2.3.2. Calostro

El calostro es la secreción de la glándula mamaria durante los primeros cuatro días posteriores al parto, es el alimento que ingieren los neonatos en las primeras 24 horas de vida y contiene las secreciones acumuladas de la glándula mamaria durante las últimas semanas de gestación procedentes de la sangre materna (Doménech, 2007), el cual funge un papel importante en los primeros días en la vida de un ternero recién nacido, ya que además de proporcionar la nutrición para el crecimiento y desarrollo del neonato, también proporciona protección contra posibles infecciones que puedan adquirir los terneros, mientras que el sistema inmunológico se encuentra en desarrollo (Gopal y Hill, 2000).

La composición del calostro es importante para satisfacer las necesidades nutricionales de los terneros lecheros neonatales, ya que un calostro de alta calidad podría reducir la mortalidad de los terneros, fortalecer la inmunidad y aumentar la vida del animal (Quigley y Drewry, 1998). Por lo tanto, la proporción de nutrientes

esenciales que complementan las escasas reservas en el neonato bovino, dependerán de la calidad del calostro (Kehoe *et al.*, 2007).

La concentración de nutrientes como vitaminas y sustancias minerales, así como de inmunoglobulinas durante los primeros días de lactación va disminuyendo a la vez que aumenta los componentes elaborados por la glándula mamaria, hasta alcanzar la concentración de nutrientes propios de la leche como la lactosa y la caseína (Cuadro 1), después la composición de la leche permanece relativamente constante a lo largo de toda la lactación (Gürtler y Schweigert, 2005), es así que la concentración de lactosa en el calostro, comparada con la leche entera es netamente inferior, sin embargo en cuanto al contenido de carbohidratos tanto en la leche como en el calostro también incluyen oligosacáridos, glicoproteínas y glicolípidos (Gopal y Hill, 2000), con respecto al contenido de minerales, en el calostro se detectan concentraciones más elevadas de sodio, calcio, cloro y fosforo, mientras que las concentraciones de citrato y potasio son menores comparadas con la leche entera, además también se encuentran proteínas liposolubles como A y E, así como β -caroteno que junto con la hemoglobina son los responsables del color amarillento o pardo del calostro de la vaca (Gürtler y Schweigert, 2005).

Cuadro 1. Composición del calostro y leche en diferentes días de lactación en vacas

Componente	Calostro	Decimo ordeño	Leche
Energía (MJ/kg)	5.2	3.6	2.9
Residuo seco (%)	21.6	14.2	12.3
Grasa (%)	3.3	4.7	3.5
Proteína (%)	14.2	4.3	3.3
Lactosa (%)	2.9	4.4	4.8
Sodio (mmol/L)	34.7	23.0	17.4
Potasio (mmol/L)	33.2	38.4	40.9
Calcio (mmol/L)	49.9	32.4	29.9
Magnesio (mmol/L)	12.3	6.2	4.9
Cloro (mmol/L)	38.1	28.2	25.4
Fosfato (mmol/L)	61.4	38.7	32.3
Citrato (mmol/L)	3.7	8.6	9.3

Adaptado de Gürtler y Schweigert (2005)

2.3.2.1. Inmunología de las becerras

Debido a que los terneros neonatos no tienen inmunidad adaptativa son particularmente propensos a enfermedades, el período más difícil en la cría de ganado se extiende hasta el final del tercer mes de edad (Bombik *et al.*, 2012). Ya que, si los terneros enferman durante este período, su crecimiento podría verse afectado, aumentaría la posibilidad de muertes o su productividad podría disminuir al convertirse en adultos (Ishihara *et al.*, 2001).

El estado inmune óptimo de los animales, principalmente en crecimiento, es vital para proteger al huésped contra la invasión de patógenos y sustancias extrañas (Okonkwo *et al.*, 2015), por lo que los mecanismos inmunes como tejidos, órganos, células y productos químicos especializados deben trabajar en conjunto para asegurar una inmunidad, reconociendo y destruyendo los invasores extraños (Franklin *et al.*, 2003). Ya que el sistema inmune al ser altamente susceptible a ambientes hostiles, patógenos invasores y condiciones que causan estrés físico o psicológico podrían conducir a una disfunción inmune y al desarrollo de diversos trastornos (Dhote *et al.*, 2005).

2.3.2.2. Desarrollo embrionario y placentario

La importancia del calostro, además de proporcionar nutrientes fácilmente digeribles al recién nacido, radica en la transmisión de anticuerpos de la madre al recién nacido (Gürtler y Schweigert, 2005), esto es debido a que en los rumiantes no se permite la transferencia perinatal de inmunoglobulinas a través de la placenta (Franklin *et al.*, 2003) al ser de tipo sindesmocorial (el epitelio coriónico está en contacto con el tejido conjuntivo uterino) formando un sincitio entre el endometrio materno y el trophoctodermo fetal, separando los suministros de sangre materna y fetal y previniendo la transmisión de inmunoglobulinas *in útero* (Weaver *et al.*, 2000), por lo que los terneros al nacer tienen un sistema inmune relativamente ingenuo que inhibe su capacidad para montar una respuesta inmune eficaz (Doménech, 2007; Beam *et al.*, 2009).

2.3.2.3. Transferencia de inmunidad pasiva

Dado a que los niveles de IgG del neonato son muy inferiores a los niveles de sus madres (agammaglobulinémicos), lo que implica que deben tener anticuerpos de la madre a través del calostro para quedar protegidos contra enfermedades infecciosas en las primeras horas y días de vida (Gürtler y Schweigert, 2005; Beam *et al.*, 2009), de esta forma el ternero dispone de una inmunidad pasiva (Weaver *et al.*, 2000; Elfstrand *et al.*, 2002; Franklin *et al.*, 2003).

Entre los factores que contribuyen al éxito de la transferencia pasiva de inmunidad, está la alimentación de calostro con alta concentración de inmunoglobulina (> 50 mg/mL de IgG), la alimentación con calostro de buena calidad, la alimentación rápida del calostro después del nacimiento y minimizando la contaminación bacteriana del calostro (Weaver *et al.*, 2000, Johnson *et al.*, 2007). Por lo que la transferencia exitosa de inmunidad pasiva a los neonatos a través del calostro es un componente extremadamente importante en la protección de recién nacidos a enfermedades infecciosas para minimizar las pérdidas por muerte (Donovan *et al.*, 1998; Weaver *et al.*, 2000; Franklin *et al.*, 2003).

La inmunidad pasiva se confiere mayoritariamente por las inmunoglobulinas, aunque también por células inmunes y varias citoquinas presentes en el calostro (Doménech, 2007). El calostro es rico en inmunoglobulinas (Cuadro 2), siendo la IgG la principal, con IgG1 que representa más del 90%, también se encuentran IgA e IgM, aunque en menor proporción (Elfstrand *et al.*, 2002; Beam *et al.*, 2009). La principal función que desempeñan las IgA es la protección del tracto intestinal del neonato frente a la colonización de agentes patógenos ambientales (Doménech, 2007).

El transporte de inmunoglobulinas del suero a la glándula mamaria comienza varias semanas antes del parto y alcanza un pico del primer al tercer día antes del parto en la vaca, en el caso de la inmunoglobulina primaria en el calostro bovino que es la IgG1, se deriva del suero materno IgG1 (Sasaki *et al.*, 1976), y la concentración de IgG1 en el calostro es facilitada por receptores en las células epiteliales

alveolares mamarias (Barrington *et al.*, 1997), sin embargo, las células epiteliales glandulares dejan de expresar este receptor al comienzo de la lactancia, ya que la expresión alterada se produce probablemente en respuesta a la creciente concentración de prolactina (Weaver *et al.*, 2000). Probablemente los factores más significativos que afectan las concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro son la raza, la edad de la vaca, el número de lactancia y el volumen del primer ordeño del calostro (Elfstrand *et al.*, 2002).

Cuadro 2. Concentración de inmunoglobulinas en el calostro y la leche de la vaca

Inmunoglobulinas (mg/dL)	Calostro	Leche
IgG	2.400 - 8.000	50 - 750
IgA	100 - 700	10 - 50
IgM	300 - 1.300	10 - 20

Adaptado de Doménech (2007)

La protección del neonato mediante el calostro se atribuía solo a la transferencia pasiva de anticuerpos maternos sin considerar el papel de los componentes celulares y humorales, ya que contiene hasta 1×10^6 células/mL, en el que se encuentran, linfocitos (linfocitos T y B), neutrófilos, macrófagos y células epiteliales (Le Jan, 1996; Doménech, 2007), y mediadores solubles como la lactoferrina, los cuales mejoran las capacidades inmunológicas del recién nacido (Weaver *et al.*, 2000).

Los linfocitos representan del 25 al 30% de las células totales en el calostro de las vacas (Figura 2), en donde la mayoría de los linfocitos son T, los cuales expresan predominantemente el receptor de antígeno de los linfocitos T (TCR $\alpha\beta$) mientras que en la sangre periférica predominan los TCR $\gamma\delta$, y tiene diferente nivel de expresión de las moléculas CD en su superficie, CD2 aumentado, CD5 disminuido en comparación con la sangre, en cuanto a los linfocitos B su papel primordial sería

la síntesis de IgA dimérica de la secreción mamaria; sin embargo los macrófagos y neutrófilos al tener disminuidas sus funciones de migración y fagocitosis, se cree que su papel principal es la defensa de la glándula mamaria y menos la defensa del neonato (Doménech, 2007).

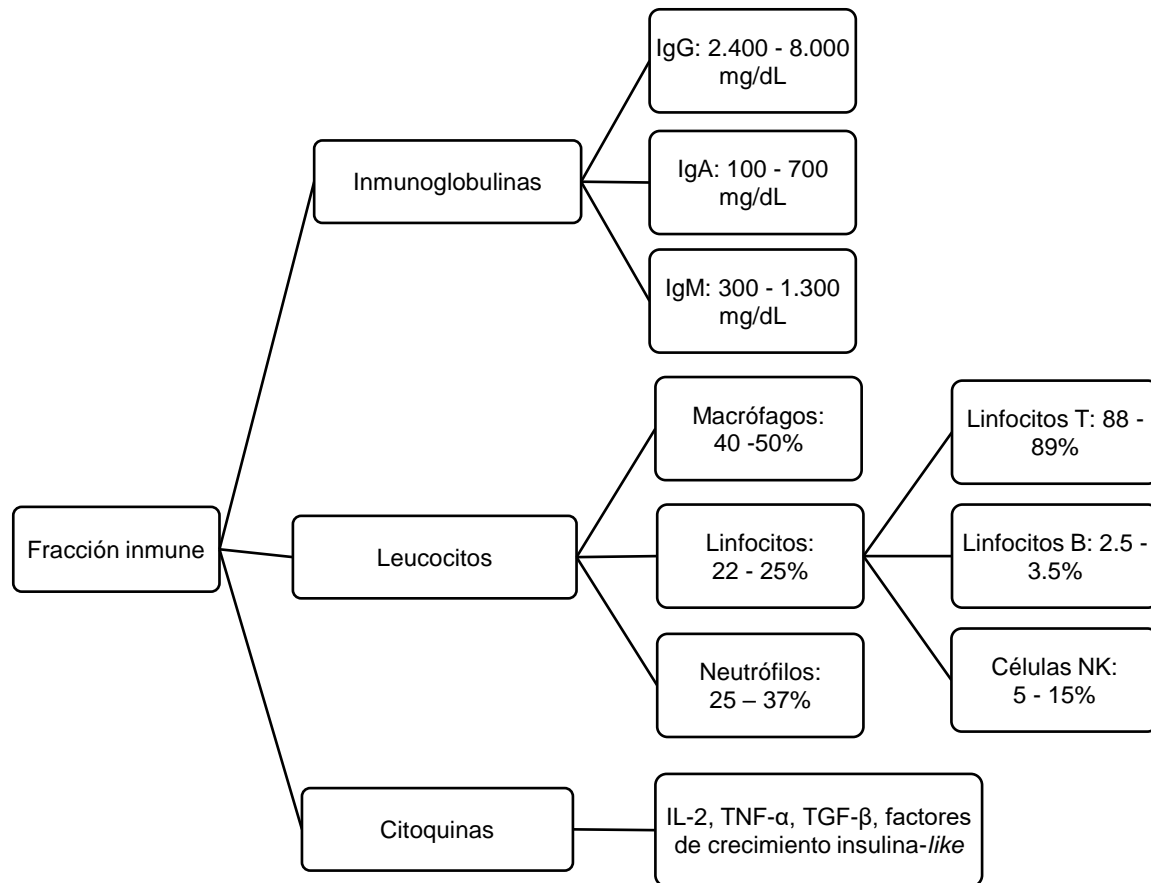


Figura 2. Componentes del sistema inmune en el calostro (Doménech, 2007).

El calostro además de ser un fluido rico en nutrientes y de la inmunidad que les proporciona a los neonatos recién nacidos, también se caracteriza por su alto nivel de componentes bioactivos (Elfstrand *et al.*, 2002), como son los factores de crecimiento, principalmente IGF-I y II, el factor de crecimiento transformante β -2 (TGF- β 2) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), además de hormonas como la insulina, el cortisol, la prolactina (Le Jan, 1996), la hormona del crecimiento (GH),

así como la lactoferrina, la lisozima y la lacto-peroxidasa (Elfstrand *et al.*, 2002), los cuales juegan un papel importante en la estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal en la ternera recién nacida (Davis y Drackley, 1998), ya que el calostro también tiene un efecto laxante que favorece la expulsión del meconio (Gürtler y Schweigert, 2005), además de controlar algunos procesos fundamentales de la vida como la división celular, la diferenciación celular o la apoptosis (Elfstrand *et al.*, 2002). En el calostro también se han identificado varias citoquinas en forma libre como la IL-2, TNF- α , las cuales podrían estimular la respuesta inmune en neonatos, así como también el calostro contiene el componente secretor tanto en forma libre como unido a la IgA, conocido como SIgA (Doménech, 2007).

Entre los métodos más utilizados para evaluar el estado de transferencia pasiva en el becerro son la inmunodifusión radial (RID), la turbidez del sulfato de zinc (ZST) y la proteína total del suero (TP) determinada por refractometría (Donovan *et al.*, 1998). La concentración total de proteína sérica está altamente correlacionada con las concentraciones de inmunoglobulina medidas usando RID (Naylor y Kronfeld, 1977). Por lo que terneros que presenten un alto riesgo de mortalidad tendrán una TP < 5.0 g/dL, mientras que los de bajo riesgo de mortalidad tendrán una TP > 5.4 basados en valores totales de proteína sérica de terneros a las 24 a 48 horas (Donovan *et al.*, 1998).

2.3.2.4. Desarrollo del sistema inmune

Durante las primeras horas de vida el tracto gastrointestinal de un becerro tiene la capacidad para permitir temporalmente la absorción de moléculas grandes, incluidas las inmunoglobulinas (Beam *et al.*, 2009), sin embargo, esta capacidad solamente existe durante las primeras 4 a 36 horas, tras el nacimiento, al cabo de las cuales cesa la absorción intestinal (Gürtler y Schweigert, 2005). Esto se debe a la sustitución de células intestinales del recién nacido por células maduras, las cuales no tienen la capacidad de absorber inmunoglobulinas al no expresar receptores (FcRn) en su superficie (Doménech, 2007).

Las inmunoglobulinas que ingieren los neonatos mediante el calostro no son degradadas en el aparato digestivo, debido principalmente a la resistencia de las inmunoglobulinas a la tripsina, además de los inhibidores de la tripsina que contiene el calostro, los cuales protegen a las inmunoglobulinas de una degradación proteolítica (Doménech, 2007). Así como también la absorción de las inmunoglobulinas intactas es posible porque el pepsinógeno y el ácido clorhídrico del estómago solamente empiezan a secretarse con intensidad tras el nacimiento (Gürtler y Schweigert, 2005).

Una vez que las proteínas llegan intactas al intestino delgado, las células intestinales inmaduras son capaces de absorber las inmunoglobulinas mediante endocitosis, y transportarlas a través del epitelio hacia la circulación sanguínea, además de cierto paso de linfocitos, dicha absorción selectiva de inmunoglobulinas parece estar medida por un receptor especializado de las células epiteliales inmaduras del intestino (FcRn), el cual permite mediante la unión específica de la IgG su entrada por pinocitosis a la célula, su transporte de forma intacta por el epitelio y su liberación a la circulación sistémica, es por ello que tras la toma de calostro, aumenta rápidamente los niveles de inmunoglobulinas en el suero de los neonatos, por lo tanto la absorción intestinal selectiva permite la transferencia pasiva de cantidades de IgG a la circulación sanguínea del neonato, lo que constituye la base de una inmunidad general sistémica fundamental mientras su sistema inmune llega a ser totalmente funcional, además de mantener altos niveles de IgA en la luz intestinal, lo cual es de suma importancia para proteger el epitelio intestinal de posibles agentes patógenos que ingiera el neonato por vía oral (agua, suelo, alimentos) y frente a los que necesita una potente inmunidad de mucosas para evitar infecciones (Doménech, 2007).

Además de la absorción de IgG1 en el intestino a través de receptores, el medio ambiente ácido del intestino (pH 6) favorece la unión de dichos receptores, para ser secretado a los capilares linfáticos del neonato, mientras que los anticuerpos de clase A protegen en parte al tubo digestivo fijándose en la superficie de la mucosa intestinal, ya que están dirigidos esencialmente contra antígenos de *E. coli*, por lo

que tienen una función importante en la profilaxis de las diarreas del recién nacido (Gürtler y Schweigert, 2005).

Es por ello que la ingesta adecuada de calostro en las primeras horas de vida del neonato es muy importante, ya que los niveles séricos máximos de inmunoglobulinas se alcanzan entre las 12 a 24 horas después del nacimiento, inmediatamente después del periodo máximo de absorción intestinal, desde ese momento las concentraciones séricas disminuyen con lentitud debido al catabolismo proteínico normal, hasta alcanzar niveles muy bajos no protectores, sin embargo el tiempo que tarda en desaparecer la inmunidad pasiva, depende principalmente del nivel de anticuerpos séricos de la madre y del volumen de calostro ingerido (Doménech, 2007).

2.3.3. Principales patologías

Varios factores pueden causar la alta incidencia de enfermedades intestinales y respiratorias en becerras lactantes, una de las causas es la edad temprana en que los animales se enfrentan a eventos de estrés importantes como el transporte, la comercialización, cambios en la dieta y exposición a una variedad de agentes infecciosos, por lo que los animales consumen menos leche y están predispuestos a la pérdida de la función de barrera del intestino (Timmerman *et al.*, 2005). Además, se destaca el deficiente manejo posparto del becerro, ya que, si el animal ingiere una cantidad inadecuada de calostro durante las primeras horas de vida, resulta en una inmunidad deficiente y, por lo tanto, escasas probabilidades de supervivencia, así como la falta de higiene en parideros y salas de lactancia, lo que favorece una rápida propagación de enfermedades al tener un gran número de animales en estas salas (Oropeza *et al.*, 1998).

La mortalidad en los neonatos se presenta, principalmente, dentro de los dos primeros meses de vida del animal, y una de las principales causas es el síndrome diarreico neonatal (SDN), el cual sobrepasa frecuentemente al 10%, ya que se estima que del 100% de la población anual de becerros entre 8 a 25% mueren por causa de este síndrome (Oropeza *et al.*, 1998). Mientras que las enfermedades

respiratorias a menudo emergen a la cuarta semana de edad, lo que genera pérdidas económicas debido a la medicación y la depresión del crecimiento (Timmerman *et al.*, 2005).

Por lo que uno de los problemas más graves en las granjas de confinamiento para las becerras es la diarrea, y que también, es una posible causa de enfermedades de los órganos respiratorios, como la neumonía, sin embargo en las granjas de cría, la presencia de diarrea no patógena es más común que la diarrea patógena la cual es causada por lo general por un desequilibrio de la microbiota intestinal, debido principalmente por estrés, ya sea por el consumo de alimentos de alta densidad, cambios drásticos en el clima (temperatura), los cambios en los componentes de la alimentación y el transporte; y en cuanto se altera el equilibrio intestinal de la microbiota, las bacterias patógenas, los virus y los coccidios pueden infectar fácilmente a los terneros (Ishihara *et al.*, 2001).

Se estima que un 35% de los terneros lecheros sufren fallo de la transferencia pasiva (FPT) la cual es una condición que predispone el desarrollo de enfermedades (Weaver *et al.*, 2000). El FPT ocurre cuando un ternero no absorbe una cantidad adecuada de inmunoglobulina (Beam *et al.*, 2009), por lo que terneros con concentraciones séricas de IgG1 menor de 10 mg/mL tienen FPT, además de su relación con el aumento de la morbilidad, la mortalidad y una reducción en la tasa de crecimiento de los terneros, en comparación con terneros que han recibido cantidades adecuadas de inmunoglobulinas calostrales (Donovan *et al.*, 1998).

Uno de los factores importantes que contribuye a la incidencia de enfermedades es el calostro, a pesar de los diversos compuestos benéficos, también puede representar una de las primeras exposiciones potenciales de agentes infecciosos a las becerras, ya que algunos patógenos pueden cultivarse a partir de calostro crudo o leche como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Mycoplasma spp.* (Butler *et al.*, 2000; Stabel *et al.*, 2004). Estos patógenos pueden estar presentes en una glándula infectada o resultar de la contaminación o proliferación bacteriana causada por la recolección incorrecta del calostro, almacenamiento o procedimientos de alimentación, una situación preocupante, ya que la contaminación bacteriana del

calostro, mediante bacterias patógenas pueden causar enfermedades como diarreas o septicemia (Johnson *et al.*, 2007). Además, se puede considerar que el calostro contaminado con bacterias patógenas podría interferir con la absorción pasiva de anticuerpos calostrales en la circulación de la becerro (James *et al.*, 1981).

2.3.4. Medicina preventiva tradicional y alternativa

El empleo de quimioterapéuticos ha sido comúnmente utilizado para el control de enfermedades, sin embargo ha sido criticado por sus impactos negativos (Kumari *et al.*, 2007), como es la contaminación ambiental, la acumulación de residuos tóxicos en los tejidos de los animales, el desarrollo de resistencia a fármacos y la inmunosupresión que estos generan (Rijkers *et al.*, 1980), por lo cual se han desarrollado alternativas al uso de los quimioterapéuticos, como es el empleo de la terapia de inmunomodulación como una estrategia para combatir diversas enfermedades, además de amplificar la respuesta inmune específica a las vacunas (Ravindra y Chauhan, 2009), así como también los inmunoestimulantes son administrados como aditivos alimentarios para modular la inmunidad inespecífica, desempeñando un papel en la protección contra las enfermedades (Kumari *et al.*, 2007).

El crecimiento exitoso de los terneros depende de la combinación de muchos factores relacionados, primordialmente, con su salud, manejo y nutrición (Heinrichs *et al.*, 1995), por lo tanto la transferencia pasiva de inmunidad es muy importante para su desarrollo, ya que al nacer agammaglobulinémicos dependerán de la inmunidad pasiva del calostro, sin embargo esta inmunidad puede fallar si se ingiere un volumen insuficiente de calostro o con un contenido bajo de inmunoglobulinas o si se alimenta el calostro después del cese de la absorción intestinal de macromoléculas (Mee *et al.*, 1996). Además de someter a los animales a eventos de estrés importantes como transporte, comercialización, cambios en la dieta y exposición a una variedad de agentes infecciosos, lo que podría llevar a tener

impactos profundos en la mortalidad, la morbilidad y el crecimiento del ternero joven (Timmerman *et al.*, 2005).

Por lo que cada vez se realizan nuevos estudios con la finalidad de mejorar la nutrición, el crecimiento y sobre todo la inmunidad para la prevención de enfermedades en neonatos, tal es el caso del procesamiento de leche o calostro (Godden *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2007), el uso de sustitutos comerciales de calostro (Haines *et al.*, 1990; Mee *et al.*, 1996), el uso de probióticos (Oropeza *et al.*, 1998; Timmerman *et al.*, 2005) y prebióticos (Uitz y Jaimes, 2012; Uyeno *et al.*, 2015), además del uso de compuestos herbales (Bombik *et al.*, 2012; Hassan y Abdel-Raheem, 2013).

2.4. Plantas con metabolitos utilizadas como herramienta terapéutica

Los suplementos naturales a base de hierbas se han utilizado en la alimentación animal con la finalidad de aumentar la eficacia de la producción, proteger el medio ambiente, además de proporcionarles a los consumidores alimentos inocuos (Bombik *et al.*, 2012). Debido a los efectos biológicos, fisiológicos y farmacéuticos que han demostrado el uso de plantas medicinales la Organización Mundial de la Salud, alienta su uso para sustituir o minimizar el uso de productos químicos utilizándolos como alternativas a los antibióticos (Hassan y Abdel-Raheem, 2013).

Estos efectos se deben principalmente a los polifenoles que contienen las plantas, los cuales se componen principalmente de siete tipos de catequinas, en el caso del té verde, como: (-)-epigallocatequina galato (EGCg), (-)-epigallocatequina (EGC), (-)-epicatequina galato (ECg), (-)-epicatequina (EC), (-)-galocatequina (GC), (-)-galocatequina galato (GCg) y (+)-catequina (C) (Ishihara *et al.*, 2001), se ha demostrado (Yam *et al.*, 1997) que estos compuestos polifenólicos tienen propiedades antimicrobianas, además de ser eficaces para mejorar las características de los alimentos procesados.

Sin embargo otros de los efectos benéficos que causan de los compuestos herbales o sus sustancias activas como los derivados del isopreno, los flavonoides, los

glucosinolatos y otros metabolitos de las plantas en la nutrición animal, pueden modificar la función fisiológica y química del tracto digestivo, lo que llevaría a la estimulación del apetito y la ingesta de alimento, la mejora de la secreción endógena de la enzima digestiva, la activación de la respuesta inmune y las acciones antibacterianas, antivirales, antioxidantes y antihelmínticas (Bombik *et al.*, 2012).

Las propiedades de las hierbas y la influencia de sus sustancias activas en la salud animal han desatado el interés por el uso de hierbas debido a una variedad de sus posibles aplicaciones y actividad compleja (Bombik *et al.*, 2012). Además de los efectos en la producción, las hierbas regulan el metabolismo, la actividad del tracto digestivo, muestran propiedades anti-estrés y mejoran la calidad de los productos derivados de animales (Bhatt *et al.*, 2009). Así como también se ha observado una mejora de la ecología ruminal (Wanapat *et al.*, 2008).

Lo cual es importante ya que los daños oxidativos son perjudiciales en la función inmune, con una suplementación antioxidante podrá intervenir en las deficiencias inmunológicas asociadas a la edad, al aumentar la respuesta específica de anticuerpos y disminuir la peroxidación lipídica (Knight, 2000). Consecuentemente los antioxidantes contenidos en las hierbas proporcionan una función adecuada de las células inmunes contra las alteraciones homeostáticas causadas por estrés oxidativo (De la Fuente, 2002).

En un estudio elaborado por Hassan y Abdel-Raheem (2013) evaluaron los efectos de la alimentación de ajo, alcaravea o ambos en el rendimiento de ganancia de peso corporal, ingesta, conversión alimenticia, digestibilidad de nutrientes y metabolitos sanguíneos de búfalos en crecimiento, ya que se ha observado que la suplementación de ajo a través del alimento presentó efectos clínicos favorables que incluyen estimulación de la función inmune, desintoxicación de compuestos extraños, además de una resistencia física, así como a diversas tensiones (Amagase *et al.*, 2001). Lo cual es debido a los componentes que contiene el ajo entero intacto como los sulfóxidos de cisteína, además de glucósidos esteroidales, lectinas, prostaglandinas, fructano, pectina, aceite esencial, adenosina, vitaminas B1, B2, B6, C y E, biotina, ácido nicotínico, grasa ácidos, glicolípidos, fosfolípidos,

antocianinas, flavonoides, fenólicos y aminoácidos (Hassan y Abdel-Raheem, 2013). Mientras que la semilla de alcaravea (*Carum carvi*) presenta propiedades antibacterianas y fungicidas importantes en medicina humana y veterinaria (Sedlakova *et al.*, 2001).

Por lo que se demostró (Hassan y Abdel-Raheem, 2013) que la alcaravea y el ajo se pueden emplear en la alimentación de becerros búfalos en crecimiento para obtener mejores digestibilidades de nutrientes, rendimiento, fermentación ruminal (aumento de ácidos grasos volátiles totales, aumento del pH ruminal y disminución del amoníaco ruminal), estado metabólico y en general el estado de la salud.

Se han realizado investigaciones (Bombik *et al.*, 2012) implementando mezclas de extractos herbales acuosos preparados a partir de *Urtica dioica*, Hb., *Hypericum perforatum*, Hb., *Melissa officinalis*, Fol., *Chamomillae recutita* Anth., *Calendula officinalis*, Flos. y *Plantago lanceolata*, Fol. en terneros a partir de la 2ª a la 14ª semana de edad, evaluando el recuento de glóbulos rojos, el recuento de glóbulos blancos, la concentración de hemoglobina, el valor de hematocrito y el volumen corpuscular medio, mostrando un efecto benéfico al administrar la mezcla de hierbas en los niveles de los parámetros hematológicos, encontrando valores significativamente más altos, por lo que la utilización de compuestos herbales es una alternativa para mejorar la salud del neonato.

Por su parte Ahn *et al.* (1991) han demostrado que los compuestos activos de los extractos del té verde son compuestos polifenólicos, los cuales ayudan a la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas, mostrando un efecto sobre el equilibrio de la microbiota intestinal y su efecto en la prevención de enfermedades digestivas y respiratorias en terneros. Así como también en un estudio realizado por Ishihara *et al.* (2001) demostraron que los extractos de té verde presentaron efectos inhibidores moderados y amplios sobre el crecimiento de bacterias patógenas, incluyendo siete cepas de *Staphylococcus spp.*, siete cepas de *Streptococcus spp.*, una cepa de *Corynebacterium suis*, 19 cepas de *Escherichia coli* y 26 cepas de *Salmonella spp.* siendo posiblemente los compuestos polifenólicos contenidos en el extracto de té verde uno de los principales responsables de la inhibición del

crecimiento de bacteriano, en cuanto al conteo fecal de *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.* se encontró un aumento y una disminución de *Clostridium perfringens*, que mejoró el equilibrio de la microbiota y disminuyó la frecuencia de diarrea en terneros Holstein transportados, lo que llevó a una disminución en la mortalidad de terneros, debido a la prevención de enfermedades de órganos digestivos y respiratorios por medio del extracto de té verde en terneros durante la lactancia, lo que demuestra que la utilización de compuestos herbales ayuda a mejorar la mortalidad y morbilidad.

2.4.1. Compuestos poliherbales

En la India se han descrito varias preparaciones a base de hierbas medicinales tradicionales para tratar enfermedades humanas y animales, que se pueden administrar a los animales para aumentar la respuesta inmune (Bhargava y Singh, 1981; Chauhan, 1999), los cuales tienen nulos o pocos efectos secundarios durante el tratamiento (Kumari *et al.*, 2007). La formulación polih herbal ImmuPlus® es una combinación de hierbas la cual contiene *Withania Somnifera* (Ashwagandha) y *Emblica officinalis* (Amlaki), *Ocimum tenuiflorum* (Tulsi), y *Tinospora cordifolia* (Guduchi) (Kumari *et al.*, 2004; Dhote *et al.*, 2005; Okonkwo *et al.*, 2015). Dicha formulación polih herbal además de amplificar la respuesta inmune en las vacunas y el estado inmunitario (Bhattacharya *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2003), sus propiedades inmunomoduladoras, tienen un poderoso efecto antioxidante y ahorrador de corticosteroides (Ames *et al.*, 1993).

En un estudio elaborado por Cecchini *et al.* (2014) demostraron que el compuesto herbal ImmuPlus® tiene un elevado potencial antioxidante, al ser una fuente significativa de flavonoides y polifenoles, los cuales podrían ser útiles en la prevención de daños perjudiciales por estrés oxidativo. Se ha demostrado que las frutas y verduras tienen altos contenidos en nutrientes antioxidantes, así como en vitamina C, vitamina E y carotenoides, los cuales contribuyen a la capacidad antioxidante total (Bean *et al.*, 2010). Sin embargo los polifenoles, al ser metabolitos

secundarios de las plantas, representan los componentes que tienen la mayor capacidad antioxidante (Cao *et al.*, 1997).

Así como también se han realizado estudios *in vivo* en carpas (Kumari *et al.*, 2007) para evaluar capacidad inmunológica de la formulación polihierbal ImmuPlus[®], con base en la resistencia a enfermedades y el crecimiento en diferentes etapas de la carpa mayor de India (*Labeo rohita*) a través de la alimentación oral, demostrando que el producto herbal ImmuPlus[®] añadido a la dieta (1 g/kg de alimento) durante 30 días, activa la inmunidad inespecífica, el crecimiento así como la respuesta inmune específica de la carpa. Se demostró que, en su etapa de larvas, al ser alimentadas con ImmuPlus[®] tuvieron una mayor supervivencia, además de mayor crecimiento. Así como también, en su etapa de peces adultos, los cuales aumentaron significativamente la supervivencia, además de un marcado aumento en el crecimiento y reducción de la mortalidad hasta el 50% contra infecciones por *Aeromonas hydrophila*. Por otro lado, la alimentación de ImmuPlus[®] durante 15 o 30 días aumentó significativamente las actividades de neutrófilos y lisozimas, así como el título de hemolisina y las concentraciones séricas de proteína total, albúmina y globulina; disminuyendo la proporción de albúmina-globulina. El efecto de la alimentación de ImmuPlus[®] sobre el nivel de inmunidad específica se observó midiendo el título de anticuerpos contra la vacunación con *Aeromonas hydrophila*.

Mientras tanto Kumari *et al.* (2004) demostraron que la incorporaron el compuesto polihierbal ImmuPlus[®] (1g/kg) en la alimentación del langostino de agua dulce (*M. rosenbergii*) durante 4 semanas eleva el estado inmune del langostino, ya que se observó un aumento en el nivel de proteína total de los langostinos alimentados con ImmuPlus[®], además de niveles elevados de actividad de la fenoloxidasa, hemaglutinina, lisozima. Demostrando que los índices de inmunidad mejoraron hasta 3^a semana de alimentación, sin embargo, disminuyeron después de 4^a semana de alimentación. Por lo que es esencial conocer la dosis óptima y el período de alimentación de cada una de las sustancias en cualquier especie; ya que los inmunoestimulantes a pesar de no erradicar todos los patógenos, reduce la mortalidad causada por patógenos oportunistas o factores de estrés, al aumentar la

resistencia a enfermedades no específicas. Lo cual es debido a sus propiedades inmunoestimulantes y antioxidantes (Kumari *et al.*, 2003).

En un estudio realizado por Ravindra y Chauhan (2009) determinaron los efectos inmunopotenciadores del ImmuPlus® (1 g/100 ml en agua durante dos meses) sobre las funciones de los macrófagos en el pollo. Observando que la función macrófaga, aumentó en un 22% el recuento de células positivas para la técnica de nitroazul de tetrazolio (NBT), un indicador de las reacciones redox (oxidación – reducción). Demostrando que el uso del ImmuPlus® mejora significativamente el poder de absorción de macrófagos y neutrófilos y, por consiguiente, mejora la inmunidad de las aves.

Por su parte Dhote *et al.* (2005) evaluaron el efecto de ImmuPlus® sobre la inmunidad específica en etapas de desarrollo de polluelos, administrado en el agua (25 mg/kg de peso corporal). Los cuales fueron inmunizados contra la enfermedad de New Castle (ENC) y la enfermedad de la bursitis infecciosa (EBI) con dosis primaria (para ambos) y de refuerzo (para ENC) a los 30 días de edad. Demostrando que el uso de ImmuPlus® tiene un efecto potenciador sobre las respuestas paraspecíficas contra los antígenos de ENC y de EBI, al observarse una tendencia continua en el conteo total de leucocitos (CTL), así mismo el recuento absoluto de linfocitos (RAL) reveló una tendencia creciente, por lo que, un aumento en la concentración celular implica el fortalecimiento y la consolidación del sistema de defensa del cuerpo, ya que los linfocitos constituyen el componente clave del sistema inmune, al aumentar o disminuir en su concentración afecta la constitución de la salud / inmunidad del cuerpo, al reconocer los antígenos extraños y aumentar la respuesta inmune. Situación similar a lo reportado por Kumar *et al.* (2003) al alimentar con ImmuPlus® a terneros vacunados con fiebre aftosa, observando un aumento significativo en los valores de IL-1 e IL-2.

Así mismo se realizó otro estudio (Okonkwo *et al.*, 2015) con la finalidad de evaluar el patrón de inmunomodulación del compuesto herbal ImmuPlus® en el anticuerpos de EIB y ENC de pollos de engorde a través del agua potable, el cual fue administrado (0.3 g) diariamente durante diez días a partir del día ocho (a una tasa

de dosis de 10 g por 1000 aves), con un intervalo de 10 días hasta el final del estudio, mientras que a otro grupo de animales se les administro 0.3 g diariamente desde el día 8 hasta el final del experimento. Observándose en los dos grupos una respuesta de anticuerpos superior a los grupos control, sin embargo, el grupo de animales con intervalos de la dosis mostró una respuesta de anticuerpos inconsistente, a diferencia de la administración diaria, ya que se mejoraba la respuesta de anticuerpos a la enfermedad, por lo tanto, puede ser útil para su control.

El uso del compuesto herbal ImmuPlus® (Maiti *et al.*, 2009) se ha implementado como inmunoterapia para prevenir la citotoxicidad de los medicamentos contra el cáncer, la metástasis y prolongar el período de supervivencia en caninos, además de la inmunosupresión que generan los tumores mamarios. Por lo que se ha utilizado con la finalidad de investigar su papel inmunopotenciador con o sin quimioterapia con doxorrubicina en tumores mamarios caninos ocurridos espontáneamente. Se observó que al emplear el ImmuPlus® en caninos por vía oral además de doxorrubicina el tumor fue completamente regresivo, además de no presentar efectos secundarios observables, así como también, se observó un aumento significativo en los títulos de anticuerpos el cual persistió hasta el final del experimento, y de un aumento significativo en el nivel de IgG, además de no observarse inmunosupresión por la toxicidad mieloide de la doxorrubicina. Así como de la rápida reducción del tumor mamario, atribuido al efecto inmunopotenciador del ImmuPlus®. Demostrando el papel del ImmuPlus® como complemento de los agentes antineoplásicos convencionales para la prevención y el tratamiento de la inmunosupresión en tumores mamarios caninos. Situándolo como un tratamiento eficaz de tumores mamarios, además de un buen fármaco inmunomodulador en la quimioterapia del cáncer.

2.4.1.1. *Emblica officinalis*

El compuesto herbal ImmuPlus® contiene Amlaki (*Emblica officinalis*), el cual es rico en vitamina C, que es un potente inmunoestimulante y antioxidante (Sahoo y

Mukherjee, 2003). Además de contener ácido ascórbico, el cual está conjugado con ácido gálico y azúcares reductores, formando un complejo taninoide, que es más estable en la naturaleza, lo cual mejora la biodisponibilidad del ácido ascórbico (Devasagayam y Sainis, 2002).

Emblica officinalis es una hierba ampliamente utilizada en el sistema de medicina indio y se cree que aumenta la defensa contra las enfermedades, ya que contiene principalmente taninos, alcaloides, compuestos fenólicos, aminoácidos e hidratos de carbono y vitamina C. Además de contener compuestos aislados como flavonoides, ácido elágico, ácido chebulínico, quercetina, ácido chebulagico, emblicaina-A, ácido gálico, emblicaina-B, punigluconin, ácido cítrico, elagitaninos, glucosa trigallayl y pectinas (Khan, 2009).

Se han realizado estudios (Sai Ram *et al.*, 2003) con la finalidad de medir la capacidad de la respuesta inmune de la *Emblica officinalis*, especialmente en condiciones inmunosupresoras contra el daño oxidativo inducido por cromo observando sus propiedades antioxidantes e inmunomoduladoras usando macrófagos como sistema modelo, ya que los macrófagos son la primera línea de defensa y una de las células más comúnmente expuestas al estrés oxidativo, además de que las células del sistema inmune son particularmente sensibles a los cambios en el equilibrio redox debido al mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en sus membranas (Meydani *et al.*, 1995), estas células ofrecen un excelente modelo para estudiar las propiedades citoprotectoras de diversos extractos de hierbas durante el daño celular por radicales libres. Demostrando que la planta *Emblica officinalis* tiene propiedades citoprotectoras contra la lesión oxidativa inducida por cromo. Esto es debido, a la capacidad de mantener niveles altos de antioxidantes en las células, además de inhibir la producción de radicales libres, incluso durante el estrés oxidativo. Además, sus compuestos restauraron la producción de λ -interferón, así como de inhibir la inmunosupresión inducida por cromo, tanto en su proliferación como en la actividad fagocítica (Sai Ram *et al.*, 2003).

2.4.1.2. *Tinospora cordifolia*

Tinospora cordifolia (Guduchi) es un arbusto ampliamente utilizado en los sistemas de medicina popular de la India, se han aislado una variedad de constituyentes de la planta, los cuales pertenecen a diferentes clases como alcaloides, lactonas diterpenoides, glucósidos, esteroides, sesquiterpenoides, fenólicos, compuestos alifáticos y polisacáridos (Singh *et al.*, 2003). Así como también, las hojas de esta planta son ricas en proteínas (11.2%), además de su alto contenido en calcio y fósforo (Khosa y Prasad, 1971; Zhao *et al.*, 1991).

Se ha demostrado (Katiyar *et al.*, 1997) que la *Tinospora cordifolia*, aumenta las funciones de las células fagocíticas y aumenta la protección contra las infecciones en animales y seres humanos, además de otras propiedades medicinales notificadas, como son antidiabéticas, antiperiódicas, antiespasmódicas, antiinflamatorias, antiartríticas, antioxidantes, antialérgicas, antiestrés, antilepróticas, antipalúdicas, hepatoprotectoras, inmunomoduladoras y actividades antineoplásicas (Singh *et al.*, 2003).

2.4.1.3. *Withania somnifera*

Withania somnifera (Ashwagandha), comúnmente conocida como cereza de invierno o ginseng indio (Chandran y Patwardhan, 2017). Ha sido reportada por sus propiedades medicinales como inmunomodulador, antiinflamatorio, anticancerígeno, cardioprotector, antiestrés, antidiabético, antioxidante, neuroprotector, antimicrobiano, antiartrítico, antiparkinsoniano, antiinflamatorio, anti-Alzheimer y por sus propiedades rejuvenecedoras (Dar *et al.*, 2015). Así como también, la *Withania somnifera* ha sido estudiada (Balakrishnan *et al.*, 2017) para investigar sus efectos inhibidores en la línea celular de cáncer de próstata altamente metastásica e independiente de andrógenos, demostrando un potencial inhibitorio inherente metastásico y selectivo frente al cáncer, por lo que *W. somnifera* puede ser un buen agente terapéutico además de los medicamentos existentes para el cáncer de próstata.

2.4.1.4. *Ocimum tenuiflorum*

Ocimum tenuiflorum (Tulsi) ha sido ampliamente utilizado en el sistema ayurvédico de la medicina para diversos síntomas, además de poseer importantes propiedades antiestrés (Bhargava y Singh, 1981). Así como también, se ha informado que el aceite obtenido a partir de semillas de *Ocimum tenuiflorum* posee importantes actividades antiinflamatorias, antipiréticas, analgésicas y antiartríticas (Mediratta *et al.*, 2002). Además de mejorar el título de anticuerpos de IgE y la reducción de la liberación de histamina inducida por antígenos de los mastocitos peritoneales (Mediratta *et al.*, 1988).

3. JUSTIFICACIÓN

Los sistemas intensivos de rumiantes tienen como principal objetivo optimizar la producción animal, por lo que la utilización de antibióticos es común como promotores de crecimiento, sin embargo, la implementación del uso de estos fármacos es cada vez menos redituable, debido a sus efectos secundarios sobre el microbiota ruminal y la resistencia a patógenos que estos generan; como también por la tendencia a producir alimentos y productos libres de químicos. Es por ello, que se están implementando alternativas de origen orgánico a través de la alimentación de los animales, para sustituir dichas sustancias sintéticas, además de mejorar la salud y los parámetros productivos de las becerras en el periodo de lactancia, destete y postdestete, ya sea incrementando la digestibilidad de los alimentos o bien fortaleciendo la microbiota ruminal e intestinal, o en cuestión de salud, aumentando factores inmunes para los pre-rumiantes y rumiantes

En el caso de las becerras para cría con alto mérito genético lechero, existe la necesidad de fijar la atención en los procesos de transición de las becerras que pasan de consumir alimento líquido a alimento sólido, situación que repercute en la respuesta productiva y estado inmunológico de estos animales, por lo que es importante la aplicación de estrategias nutricionales que aseguren el bienestar de las becerras, además de la reducción de la morbilidad y mortalidad.

Por lo cual, el uso de compuestos poliherbales ricos en metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y polifenoles, debido a sus propiedades antioxidantes que ejercen sobre el organismo animal, permiten proveer al ganado de nutrientes esenciales mejorando el comportamiento productivo y el fortalecimiento del sistema inmunológico, por lo tanto, ayudando en la prevención de enfermedades, lo que permitirá asegurar la eficiencia reproductiva de estas becerras, además de ofrecer y apoyar al productor con aditivos alternativos que economicen su sistema productivo.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la adición en la alimentación de un compuesto polihierbal (basado en *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis*) sobre la respuesta productiva, inmunológica y hemática de becerras lactantes Holstein?

5. HIPÓTESIS

El empleo de un compuesto polihierbal con potencial inmunoestimulante (basado en *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis*) adicionado a la alimentación mejorará el comportamiento productivo, la respuesta inmune y hemática en becerras lactantes de la raza Holstein.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de un compuesto polihierbal con potencial inmunoestimulante (basado en *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis*) en becerras Holstein, sobre la respuesta productiva, inmunológica y hemática.

6.2. Objetivos específicos

- Evaluar el comportamiento productivo y de salud en becerras Holstein, por efecto de la adición de un compuesto polihierbal.
- Examinar la concentración de inmunoglobulinas presentes en el suero sanguíneo, por efecto de la dosificación del compuesto polihierbal.
- Analizar los parámetros hematológicos de becerras Holstein por el efecto de la adición de un compuesto polihierbal.
- Analizar la producción de gas *in vitro* al adicionar un compuesto herbal en la alimentación de becerras Holstein.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Animales y tratamientos

El experimento se realizó en las instalaciones de un establo lechero altamente tecnificado, ubicado en la Comarca Lagunera, Gómez Palacio, Durango (25° 39' 14.4" Norte 103° 27' 27.8" Oeste, a 1,139 metros de altitud). El periodo experimental tuvo una duración de 67 días, para el cual se emplearon 40 becerras de la raza Holstein de 20 a 25 días de edad con un promedio de 43.35 ± 2.41 kg de peso vivo inicial. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en corrales individuales (becerreras), mediante un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y 10 repeticiones, considerando como unidad experimental a las becerras.

Los tratamientos consistieron en cuatro dosis del compuesto polihierbal ImmuPlus® (Indian Herbs; Nuproxa México): 0.0, 2.0, 3.0, 4.0 g d⁻¹ que es una mezcla de diferentes plantas a base de *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis*. El compuesto polihierbal fue dosificado mediante gelatinas, las cuales fueron preparadas 24 h antes de ser administradas, se mezclaron 50 g de grenetina L⁻¹ de agua (Coloidal Duché SA de CV) depositadas en vasos de plástico con la dosis deseada. Las gelatinas se administraron a las 5:00 h oralmente con guantes de plástico con un lavado con agua entre cada dosis por becerro.

Las becerras se alimentaron individualmente con un sustituto de leche no medicado (Grupo Nu-3 Alimentos Balanceados, Guanajuato, México; 22% de proteína cruda, 15% de grasa) preparada para 130 g L⁻¹ de agua. El sustituto de leche se ofreció dos veces al día según el programa de la granja para reducir gradualmente la ingesta de líquidos. El concentrado de inicio fue Iniciación Premium Destete Precoz (Nuplen, Durango, México; 21.5% de proteína cruda, 3.0% de grasa) el cual, se aumentó gradualmente y se ofreció a voluntad.

Se analizó la composición química del alimento ofrecido (iniciador), del sustituto de leche y del compuesto polihierbal como materia seca, cenizas (AOAC, 2005),

además de fibra detergente neutro y ácido empleando la metodología propuesta por Van Soest *et al.* (1991).

7.2. Crecimiento y salud animal

Las becerras fueron pesadas al inicio y final del experimento con la finalidad de estimar la ganancia diaria de peso (GDP), se registró el consumo diario de materia seca (Iniciador) y leche, determinado mediante el peso del alimento ofrecido menos el peso del alimento rechazado, la relación de eficiencia alimenticia se estimó con la GDP y la ingesta de la materia seca (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2018). Al inicio y al final del experimento se evaluaron medidas zoométricas de cada una de las becerras, de acuerdo con la técnica propuesta por Cerqueira *et al.* (2013) las cuales fueron altura de la cruz, altura de la grupa y circunferencia torácica.

Se evaluó diariamente a cada una de las becerras para registrar eventos de enfermedad de cada uno de los tratamientos, clasificados en tres grupos: digestivo, respiratorio y ótico, además de su respectivo tratamiento. Los animales fueron vacunados los días 0 y 10 contra Rinotraqueitis infecciosa bovina (Pyramyd-5, Boehringer Ingelheim) y al día 50 con una toxina bacteriana contra 10 variedades de *Clostridium* spp (Covexin 10, MSD). Del día 50 al 55 se colectaron 150 g de muestras de heces directamente del recto de cada una de las becerras, para determinar la digestibilidad aparente de la materia seca, mediante la técnica de cenizas ácido insolubles (Van Keulen y Young, 1977).

7.3. Concentración de inmunoglobulinas en sangre

Al día 60 del experimento se obtuvo una muestra sanguínea a través de la punción en la vena yugular de cada una de las becerras, en tubos de ensayo con citrato de sodio, con la finalidad de determinar la concentración de anticuerpos (inmunoglobulinas) mediante el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (Palacio *et al.*, 2002). Se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos para obtener el suero sanguíneo, posteriormente se mantuvo a -70 °C para su posterior procesamiento. Se analizó la presencia de anticuerpos contra el antígeno

(*Clostridium* spp) obtenido de la vacuna Covexin 10 y se incubó por 12 horas a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron en cada pozo 200 µL de solución bloqueadora para disminuir los sitios de unión inespecíficos, se mantuvo 2 horas a 37°C y a continuación se decantó la solución, se añadieron 100 µL de las muestras en su respectivo pozo, e incubaron 1 h a 37 °C. Se decantó el contenido de las placas y se agregaron 100 µL del anticuerpo secundario específico IgG bovino y se dejó incubar 1 hora a 37 °C. A continuación se añadió TMB (3,3',5, 5'-Tetramethylbenzidine liquid), 100 µL a cada pozo y se agregó la solución de paro (H₂SO₄) 100 a cada pozo para detener la reacción. Finalmente se determinó la concentración de inmunoglobulinas en el lector de Elisa a 540 nm.

7.4. Parámetros hematológicos

Al día 60 del periodo experimental, se obtuvieron muestras de sangre en la vena yugular de cada becerro, con y sin heparina para la bioquímica y biometría de la sangre, respectivamente. Se utilizaron tubos sin anticoagulante con la finalidad de obtener suero sanguíneo y poder determinar la glucosa, butirato de B-OH, urea, ácido úrico, creatinina, proteína total, globulina, albúmina, colesterol, bilirrubina, fosfatasa alcalina (ALP), lactato deshidrogenasa (LDH), aspartato amino transferasa (AST), Ca y P, utilizando un autoanalizador Kontrolab 2017. La muestra de sangre recolectada con heparina se utilizó para el hemograma completo (CBC) y el recuento diferencial de leucocitos, el hematocrito se evaluó mediante un analizador de hematología QS Kontrolab EasyVet.

7.5. Producción de gas *in vitro*

Se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* propuesta por Theodorou *et al.* (1994), para el cual se emplearon las mismas dosis del compuesto polihierbal que el experimento *in vivo* (0.0, 2.0, 3.0 y 4.0 g kg⁻¹) además de 0.5 g del alimento Iniciación Premium Destete Precoz empleado como sustrato. Para las incubaciones *in vitro* se utilizaron frascos ámbar con una capacidad de 120 mL a los cuales se les adicionó el sustrato con sus respectivas dosis del compuesto polihierbal, así como

90 mL de líquido ruminal estandarizado con flujo continuo de dióxido de carbono (CO₂) cerrados herméticamente. Para la técnica se colectó líquido ruminal de dos vacas Holstein canuladas y alimentadas con ensilado de maíz y una mezcla de veza sativa con avena en una relación 50:50. El líquido ruminal fue homogenizado y depositado en un termo a 39° C, posteriormente fue filtrado con ocho capas de gasa con la finalidad de eliminar las partículas de alimento, inmediatamente fue saturado con CO₂ en seguida fue adicionado a una solución mineral estandarizada en relación 1:9 v/v.

Los frascos fueron depositados en un baño maría a 39 °C para registrar la presión de gas a las 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36 y 48 horas después de la incubación con un manómetro digital. Al final de la incubación se filtró el contenido de los frascos para estimar la degradabilidad de la materia seca (DIVMS). Los valores de presión fueron transformados a volumen de gas (Vo) empleando una ecuación de regresión lineal. Los parámetros de la cinética de producción de gas se estimaron con cada fracción de tiempo los cuales son: fase lag (h), volumen máximo (Vm) y tasa de producción de gas (S) utilizando el modelo logístico propuesto por Menke y Steingass, (1988):

$$Vo = Vm / (1 + \exp(2 - 4 * s * (tL)))$$

7.6. Análisis estadístico

A los datos obtenidos de este experimento se verificó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, los datos no paramétricos fueron transformados a través de logaritmo natural. Los resultados se analizaron mediante un diseño completamente al azar con el software JMP7, se determinaron efectos lineales y cuadráticos mediante polinomios ortogonales (Sall *et al.*, 2012), con un nivel de significancia de P < 0.10.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos tras esta investigación son:

El envío de un artículo científico al South African Journal of Animal Science intitulado “Polyherbal mixture for dairy calves: Effects on performance, blood biochemistry, biometry and immunoglobulins”.

La publicación de un artículo de divulgación científica intitulado “Efecto de aditivo herbal sobre la digestibilidad aparente de la materia seca de becerras Holstein” en la Revista Mexicana de Agroecosistemas, Oaxaca Volumen VI (Suplemento 2), 2019, ISSN:2007-9559. :<http://hdl.handle.net/20.500.11799/106047>

La publicación de un capítulo de libro intitulado “Compuestos poliherbales inmunoestimulantes en la fermentación ruminal y producción de metano *in vitro*: como una alternativa para la crianza de becerras” en: Avances de la Investigación sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México, José Herrera Camacho, Alfonso Juventino Chay Canul, Fernando Casanova Lugo, Ángel Trinidad Piñeiro Vázquez, Liliana Márquez Benavides, Evelina Santillán Ferreyra, José Arce Menocal, Primera edición, Morelia, Michoacán, México 2018, ISBN: 978-607-542-022-6.

https://www.researchgate.net/profile/Luis_Cruz_Bacab/publication/326679371_Efecto_de_la_inulina_oral_sobre_rendimiento_valores_hematologicos_y_perfil_lipidico_en_conejos_de_engorda/links/5ba516af92851ca9ed1c6208/Efecto-de-la-inulina-oral-sobre-rendimiento-valores-hematologicos-y-perfil-lipidico-en-conejos-de-engorda.pdf

8.1. Artículo científico

SAJAS - Submission Received 2

Yahoo/Enviados ★



webmaster@journals.sasas.co.za
Para: pedro_abel@yahoo.com



mar., 12 de may. a las 12:28 a. m. ★

Dear Dr. Pedro Abel Hernández

Thank you. I received your manuscript and will forward it to a sub-editor.

Please note that your paper has been filed as: Velázquez 12 May 2020 - 2001, that should be used as reference in all correspondence.

Please note that submission of a manuscript is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the submission and are in agreement with its content.

Kind regards,
Prof. Mike MacNeil
Editor-in-Chief, SAJAS

Log In

Direct Link: <http://www.journals.sasas.co.za/>

<>----- END OF MESSAGE -----<>

Do not reply to this email - it is an automated message from an unattended mailbox.

Polyherbal mixture for dairy calves: Effects on performance, blood biochemistry, biometry and immunoglobulins

L.A. Velázquez¹, G.D. Mendoza², P.A. Hernández^{1#}, E. Espinosa¹, A. Gloria², A.I. Osorio¹, M.E. de la Torre² & M. Palacios²

¹Universidad Autónoma del Estado de México, Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Centro Universitario UAEM Amecameca, Estado de México, México, México

²Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, Departamento de Producción Agrícola y Animal, México City, México

ABSTRACT

An experiment was conducted to evaluate the effect of a polyherbal mixture (based on *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* and *Emblica officinalis*) on calves' growth, health and blood profile. Forty female Holstein calves (initial body weight BW 43.35 kg \pm 2.41 kg; 20 - 25 days old) were randomly assigned to the treatments which consisted of daily oral doses of the polyherbal mixture (ImmuPlus, Nuproxa) at 0, 2, 3 and 4 g/d. The experiment lasted 67 days. Starter intake was reduced linearly but a quadratic response was observed for milk intake and feed conversion ratio as the dose of polyherbal was increased. There was a quadratic response in final BW, average daily gain (ADG), and final thoracic girth obtaining a better productive response with the dose of 2 and 3 g/d. The regression dose estimated for the maximum ADG of polyherbal mixture was 2.05 \pm 0.63 g/d. There was no effect on incidence of disease events (digestive, respiratory and otic) or antibiotic doses. But there was a linear and quadratic response increasing immunoglobulins concentrations. A linear reduction was observed in blood glucose and urea whereas bilirubin was increased linearly with supplementation of the polyherbal mixture. Lactate dehydrogenase showed a quadratic response. Plasma proteins, lymphocytes, segmented and band neutrophils showed a quadratic response. The inclusion of the polyherbal mixture improved the daily gain in calves and changes in blood confirm a hypoglycemic effect and stimulatory immune response by supplementing the polyherbal mixture.

Keywords: antioxidants, feed plant, immunity, phytobiotics.

#Corresponding author: pedro_abel@yahoo.com

8.2. Artículo de divulgación científica

Velázquez-Cruz L.A., Hernández G.P.A., Espinosa-Ayala E., Mendoza G.D., Díaz-Galván, C., Razo-Ortiz P.B., Ponce-Pérez O., Osorio-Teran A.I., Ojeda-Carrasco J.J. 2019. Efecto de aditivo herbal sobre la digestibilidad aparente de la materia seca de becerras Holstein. Revista Mexicana de Agroecosistemas. 6 (2) 408-412.

<http://148.215.1.182/bitstream/handle/20.500.11799/106047/Efecto%20aditivo%20herbal%20Lucero%20Vel%C3%A1zquez%20417-421.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



EFFECTO DE ADITIVO HERBAL SOBRE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA SECA DE BECERRAS HOLSTEIN

[EFFECT OF HERBAL ADDITIVE ON THE APPEARING DIGESTIBILITY OF THE DRY MATTER OF HOLSTEIN CALVES]

L. A. Velázquez C.¹, P. A. Hernández G.², E. Espinosa-Ayala³, D. G. Mendoza M.³, C. Díaz G.⁴, P. B. Razo O.⁴, O. Ponce P.¹, A. I. Osorio-Teran⁵, J. J. Ojeda-Carrasco²

¹Posgrado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México. ²Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México. ³Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México. ⁴Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México. ⁵Autor para correspondencia: (pedro_abel@yahoo.com).

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la dosificación de 0.0, 2.0, 3.0 y 4.0 g d-1 en la alimentación de un aditivo herbal conformada por (*Withania somnifera*, *Ocimum sanctum*, *Tinospora cordifolia* y *Embllica officinalis*) de becerras Holstein sobre la digestibilidad aparente. Se emplearon 40 becerras de la raza Holstein de 20 a 25 días de edad (peso inicial 43.35 ± 2.41 kg), los animales fueron distribuidos aleatoriamente en corrales individuales equipados con comederos y bebederos. La dosificación del aditivo herbal fue mediante la administración oral, durante 67 días. Se colectaron muestras de heces, a los días 50-55 del experimento, de cada una de las becerras para determinar la digestibilidad aparente de la materia seca. La dosificación del aditivo herbal no modificó ($p > 0.05$) la digestibilidad aparente de la materia seca, sin embargo, presentó una tendencia creciente con la adición de 2, 3 y 4 g d-1 del aditivo herbal aumentando 7.27, 8.02 y 4.86 %, respectivamente, con respecto a la dieta control. Por lo tanto, el empleo de 2.51 g d-1 de un aditivo herbal puede utilizarse como alternativa en la alimentación de becerras mejorando la digestibilidad aparente de la materia seca, optimizando el estado nutricional en la cría de becerras.

Palabras clave: Compuesto poli herbal, metabolitos secundarios, nutraceuticos.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the dosage of 0.0, 2.0, 3.0 and 4.0 g d-1 in the feeding of an herbal additive (based on *Withania somnifera*, *Ocimum sanctum*, *Tinospora cordifolia* and *Embllica officinalis*) of Holstein calves on digestibility apparent of dry matter. We used 40 Holstein calves from 20 to 25 days of age (initial weight 43.35 ± 2.41 kg), the animals were distributed randomly in individual pens equipped with feeders and drinking troughs. The dosage of the herbal additive was by an oral administration, for 67 days. Stool samples were collected, on days 50-55 of the experiment, from each of the calves to determine the apparent

8.3. Capítulo de libro

Velázquez -Cruz L.A., Hernández-García P.A., Espinosa-Ayala E., Mendoza-Martínez G.D., Díaz-Galván C., Razo-Ortiz P.B., Ponce-Pérez O. 2018. Compuestos poliherbales inmunoestimulantes en la fermentación ruminal y producción de metano in vitro: Como una alternativa para la crianza de becerras En: Herrera-Camacho J., Chay-Canul A.J., Casanova-Lugo F., Piñeiro-Vázquez A., Márquez- Benavides L. Santillán-Ferreyra E, Arce-Menocal J. Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México (pp. 707-711). Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ISBN: 978-607-542-022-6.

https://www.researchgate.net/profile/Luis_Cruz_Bacab/publication/326679371_Efecto_de_la_inulina_oral_sobre_rendimiento_valores_hematologicos_y_perfil_lipidico_en_conejos_de_engorda/links/5ba516af92851ca9ed1c6208/Efecto-de-la-inulina-oral-sobre-rendimiento-valores-hematologicos-y-perfil-lipidico-en-conejos-de-engorda.pdf

COMPUESTOS POLIHERBALES INMUNOESTIMULANTES EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y PRODUCCIÓN DE METANO *In vitro*: COMO UNA ALTERNATIVA PARA LA CRIANZA DE BECERRAS

Velázquez-Cruz L.A.¹, Hernández-García P.A.^{2*}, Espinosa-Ayala E.², Mendoza-Martínez G.D.³, Díaz-Galván C.², Razo-Ortiz P.B.², Ponce-Pérez O.²

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México. ²Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México. ³Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México
Autor para correspondencia: pedro_abel@yahoo.com

Resumen

Palabras clave: ImmuPlus®, Animunin®, fermentación ruminal, fórmula polihierbal, polifenoles, flavonoides.

El objetivo fue evaluar el efecto de la adición de 0, 2, 3 y 4 g de compuestos polihierbales inmunoestimulantes, incorporados a un alimento iniciador para becerros en la fermentación ruminal y producción de metano *in vitro*. Se emplearon dos fórmulas polihierbales ImmuPlus® y Animunin®. A los tratamientos se les realizaron producción de gas *in vitro*, registrando lecturas de presión y volumen de gas a las 3, 6, 9, 12, 24, 36 y 48 h obteniendo así volumen máximo, tasa de producción, fase lag, degradabilidad de la MS, además de determinar la producción de CH₄ y CO₂. Los resultados se analizaron empleando un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 2X4 y efectos principales. Obteniendo que con la adición de los compuestos polihierbales se observaron cambios (P < 0.001) por efecto de nivel en el volumen máximo de producción de gas y fase lag, al igual que la tasa de producción de gas (P < 0.05). La degradabilidad de la materia seca presentó diferencia significativa (P < 0.05) tanto por nivel, como por compuesto herbal comparados con el testigo. Por otra parte, la producción de metano mostró efecto positivo al disminuir la emisión de gas (P < 0.01), presentando efecto por compuesto, nivel e interacción (compuesto x nivel), destacando que la inclusión de 3 g del compuesto ImmuPlus® y 4 g de Animunin® disminuye la producción de CH₄. La producción de CO₂ mostró cambios (P < 0.001) por nivel ya que incrementó con la inclusión de los compuestos polihierbales. La adición de 2, 3 y 4 g del compuesto polihierbal ImmuPlus® mostró propiedades benéficas para la fermentación ruminal y producción de metano *in vitro*, sin presentar cambios por adición de Animunin®, por lo que estos compuestos polihierbales puede favorecer la dinámica ruminal en la crianza de becerros.

IMMUNOSTIMULANT POLYHERBAL COMPOUNDS IN RUMINAL FERMENTATION AND METHANE PRODUCTION IN VITRO: AN ALTERNATIVE FOR RAISING CALVES

Summary

Keywords: ImmuPlus®, Animunin®, ruminal fermentation, polyherbal formula, polyphenols, flavonoids

The objective was to evaluate the effect of the addition of 0, 2, 3 and 4 g of immunostimulant polyherbal compounds, incorporated into an initiator feed for heifers in ruminal fermentation and *in vitro* methane production. two polyherbal formulas ImmuPlus® and Animunin® were used. The treatments were performed *in vitro* gas production, registering gas

9. CONCLUSIONES GENERALES

El compuesto polihierbal a base de *Withania somnifera*, *Ocimum tenuiflorum*, *Tinospora cordifolia* y *Emblica officinalis* puede administrarse vía oral a dosis de $2.05 \pm 0.63 \text{ g d}^{-1}$ en becerras lactantes, mejorando su crecimiento y salud. Algunos parámetros hematológicos como la glucosa y la urea indican un adecuado metabolismo proteico en estos animales, asimismo las inmunoglobulinas y algunos indicadores de la biometría corroboran que su uso en la alimentación mejora la respuesta inmune. Al ser un aditivo herbal rico en metabolitos secundarios como polifenoles y flavonoides puede utilizarse como alternativa en la alimentación de becerras optimizando el estado nutricional de animal, disminuyendo el uso de antibióticos y por consiguiente, mejorando la producción en la cría de becerras de reemplazo, las cuales se convertirán en el futuro hato lechero.

10. SUGERENCIAS

Se recomienda continuar con estudios sobre la microbiota gastrointestinal de becerros lactantes, con el objetivo de buscar otros posibles efectos benéficos del compuesto polihierbal, del mismo modo analizar muestras sanguíneas a nivel molecular, para poder observar todos los posibles cambios favorecedores sobre la salud y la producción de los animales. Así mismo, se sugiere seguir con las investigaciones de este compuesto polihierbal en todas las etapas de crecimiento de animales lecheros, con la finalidad de mejorar toda la cadena productiva además de un adecuado bienestar animal.

11. LITERATURA CITADA

- Aguilar Valdés, A., Luévano González, A., y Rodríguez, J. J. (2002). Diagnóstico situacional estratégico en empresas lecheras de la comarca lagunera en el norte-centro de México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 6(11).
- Ahn, Y. J., Kawamura, T., Kim, M., Yamamoto, T., y Mitsuoka, T. (1991). Tea polyphenols: selective growth inhibitors of *Clostridium* spp. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(5), 1425-1426.
- Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., y Itakura, Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 955S-962S.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., y Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.
- AOAC International. (2005). Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International.
- Balakrishnan, A. S., Nathan, A. A., Kumar, M., Ramamoorthy, S., y Mothilal, S. K. R. (2017). *Withania somnifera* targets interleukin-8 and cyclooxygenase-2 in human prostate cancer progression. *Prostate International*, 5(2), 75-83.
- Barrington, G. M., Besser, T. E., Davis, W. C., Gay, C. C., Reeves, J. J., y McFadden, T. B. (1997). Expression of immunoglobulin G1 receptors by bovine mammary epithelial cells and mammary leukocytes. *Journal of Dairy Science*, 80(1), 86-93.
- Beam, A. L., Lombard, J. E., Koprak, C. A., Garber, L. P., Winter, A. L., Hicks, J. A., y Schlater, J. L. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3973-3980.
- Bean, H., Schuler, C., Leggett, R. E., y Levin, R. M. (2010). Antioxidant levels of common fruits, vegetables, and juices versus protective activity against *in vitro* ischemia/reperfusion. *International Urology and Nephrology*, 42(2), 409-415.
- Bhargava, K. P., y Singh, N. (1981). Anti-stress activity of *Ocimum sanctum* Linn. *The Indian Journal of Medical Research*, 73, 443.

- Bhatt, N., Singh, M., y Ali, A. (2009). Effect of feeding herbal preparations on milk yield and rumen parameters in lactating crossbred cows. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(6), 721-726.
- Bhattacharya, A., Ghosal, S., y Bhattacharya, S. K. (2001). Anti-oxidant effect of *Withania somnifera* glycowithanolides in chronic footshock stress-induced perturbations of oxidative free radical scavenging enzymes and lipid peroxidation in rat frontal cortex and striatum. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(1), 1-6.
- Bombik, T., Bombik, E., Frankowska, A., Trawińska, B., y Saba, L. (2012). Effect of herbal extracts on some haematological parameters of calves during rearing. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 56(4), 655-658.
- Butler, J. A., Sickles, S. A., Johanns, C. J., y Rosenbusch, R. F. (2000). Pasteurization of discard mycoplasma mastitic milk used to feed calves: Thermal effects on various mycoplasma. *Journal of Dairy Science*, 83(10), 2285-2288.
- Cao, G., Sofic, E., y Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., y Kamel, C. (2005). Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science*, 83(11), 2572-2579.
- Cecchini, S., Paciolla, M., Caputo, A. R., y Bavoso, A. (2014). Antioxidant potential of the polyherbal formulation "ImmuPlus": a nutritional supplement for horses. *Veterinary Medicine International*, 2014.
- Cedillo, J., F. Vázquez-Armijo, A. González-Reyna, A.Z.M. Salem, A. Kholif, J., y Hernández-Meléndez. (2014). Effects of different doses of *Salix Babylonica* extract on growth performance and diet *in vitro* gas production in pelibuey growing lambs. *Italian Journal of Animal Science*, 13:609-613.
- Cerqueira, J. O. L., Araújo, J. P. P., Vaz, P. S., Cantalapiedra, J., Blanco-Penedo, I., y Niza-Ribeiro, J. J. R. (2013). Relationship between Zoometric Measurements in Holstein-Friesian Cow and Cubicle Size in Dairy Farms. *International Journal of Morphology*, 31(1), 55-63.

- Chandran, U., y Patwardhan, B. (2017). Network ethnopharmacological evaluation of the immunomodulatory activity of *Withania somnifera*. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 250-256.
- Chauhan, R. S. (1999). Effect of immuplus on humoral and cell mediated immunity in dogs. *Journal of Immunology and Immunopathology*, 1(1and2), 54-57.
- Dar, N. J., Hamid, A., y Ahmad, M. (2015). Pharmacologic overview of *Withania somnifera*, the Indian Ginseng. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(23), 4445-4460.
- Das P.K., Das M.R., Acharya K.C., y Ray S.K. (2003). Evaluation of herbal immunostimulant "Immu-21" in prevention and treatment of bovine clinical mastitis. *Phytomedica*, 4:13-20.
- Davis, C. L., y Drackley, J. K. (1998). Starter feed: Importance, composition, and intake. In: *The Development, Nutrition and Management of the Young Calf*. Iowa State University Press, Ames, 283-306.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., y Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691-14696.
- De la Fuente, M. (2002). Effects of antioxidants on immune system ageing. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(S3), S5.
- Devasagayam, T. P. A., y Sainis, K. B. (2002). Immune system and antioxidants, especially those derived from Indian medicinal plants. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40, 639-655.
- Dhote, B. S., Singh, G. K., y Chauhan, R. S. (2005). Effect of immuplus (a herbal immunomodulator) on paraspecific immune responses in chicks. *ISAH Warsaw Poland*, 2, 60-65.
- Doménech, A. (2007). Inmunidad en el feto y el neonato. En: *Manual de inmunología veterinaria*. Gómez-Lucía, E., Blanco, M. D. M., y Doménech, A. (No. 619: 612.017). Pearson Prentice Hall. Pp.: 491-512.

- Donovan, G. A., Dohoo, I. R., Montgomery, D. M., y Bennett, F. L. (1998). Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 34(1), 31-46.
- Elfstrand, L., Lindmark-Månsson, H., Paulsson, M., Nyberg, L., y Åkesson, B. (2002). Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *International Dairy Journal*, 12(11), 879-887.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2017). Perfiles por país del recurso pastura/forraje, México. Consultado en Agosto de 2017. Disponible en línea: http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/spanishtrad/mexico_sp/mexico_s p.htm#4a
- Franklin, S. T., Amaral-Phillips, D. M., Jackson, J. A., y Campbell, A. A. (2003). Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2145-2153.
- Godden, S. M., Smith, S., Feirtag, J. M., Green, L. R., Wells, S. J., y Fetrow, J. P. (2003). Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1503-1512.
- Gopal, P. K., y Gill, H. S. (2000). Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), 69-74.
- Gürtler H. y Schweigert F.J. (2005) Fisiología de la lactación. En: Fisiología veterinaria. Engelhardt, V. W., y Breves, G. *Editorial ACRIBIA, SA Zaragoza, España*. Pp.: 603-624.
- Haines, D. M., Chelack, B. J., y Naylor, J. M. (1990). Immunoglobulin concentrations in commercially available colostrum supplements for calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 31(1), 36.
- Hassan, E. H., y Abdel-Raheem, S. M. (2013). Response of growing buffalo calves to dietary supplementation of caraway and garlic as natural additives. *World Applied Sciences Journal*, 22(3), 408-414.

- Heinrichs, A. J., Wells, S. J., y Losinger, W. C. (1995). A study of the use of milk replacers for dairy calves in the United States. *Journal of Dairy Science*, 78(12), 2831-2837.
- Hernández Morales, P., Estrada-Flores, J. G., Avilés-Nova, F., Yong-Angel, G., López-González, F., Solís-Méndez, A. D., & Castelán-Ortega, O. A. (2013). Tipificación de los sistemas campesinos de producción de leche del sur del Estado de México. *Universidad y Ciencia*, 29(1), 19-31.
- Ishihara, N., Chu, D. C., Akachi, S., y Juneja, L. R. (2001). Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. *Livestock Production Science*, 68(2), 217-229.
- James, R. E., Polan, C. E., y Cummins, K. A. (1981). Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [iodine-125] γ -globulin *in vivo* by intestinal segments of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 64(1), 52-61.
- Johnson, J. L., Godden, S. M., Molitor, T., Ames, T., y Hagman, D. (2007). Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5189-5198.
- Katiyar, C. K., Brindavanam, N. B., Tiwari, P., y Narayana, D. B. A. (1997). Immunomodulator products from Ayurveda: current status and future perspectives. *Immunomodulation*, Narosa Publishing House, New Delhi, 163-87.
- Kazemi-Bonchenari, M., Falahati, R., Poorhamdollah, M., Heidari, S.R. y Pezeshki, A. (2018). Essential oils improved weight gain, growth and feed efficiency of young dairy calves fed 18 or 20% crude protein starter diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(3), 652-661.
- Kehoe, S. I., Jayarao, B. M., y Heinrichs, A. J. (2007). A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4108-4116.
- Khan, K. H. (2009). Roles of *Embllica officinalis* in medicine-A review. *Botany Research International*, 2(4), 218-228.
- Khosa, R. L., & Prasad, S. (1971). Pharmacognostical studies on Guduchi *Tinospora cordifolia* (Miers). *Journal of Research Indian Medicine*, 6(3), 261-9.

- Knight, J. A. (2000). Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 30(2), 145-158.
- Kraszewski J., S. Wawrzynczak, M. Wawrzynski. (2002). Effect of herb feeding on cow performance, milk nutritive value and technological suitability of milk for processing. *Annals of Animal Science*; 2(1): 147–158.
- Kumar, R., Singhal, L. K., Singh, B. P., Rana, N., Singh, D. D., y Chauhan, R. S. (2003). Immuplus up regulates immune response to FMD vaccine in calves. *Livestock International*, 7(10), 11-15.
- Kumari, J., Sahoo P.K., Giri S.S., Pillai B.R. (2004). Immunomodulation by Immuplus (Aqualmmu) in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Indian Journal of Experimental Biology*, 42: 1073-1077.
- Kumari, J., Sahoo, P. K., & Giri, S. S. (2007). Effects of polyherbal formulation 'ImmuPlus' on immunity and disease resistance of Indian major carp, *Labeo rohita* at different stages of growth. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45, 291-298.
- Kumari, J., Swain, T., y Sahoo, P. K. (2003). Dietary bovine lactoferrin induces changes in immunity level and disease resistance in Asian catfish *Clarias batrachus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94(1), 1-9.
- Le Jan, C. (1996). Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Veterinary Research*, 27(4-5), 403-417.
- Li Y., Wang Y., Ding X., Zhang Y., Xue S., Lin C., Xu W., Dou X., y Zhang L. (2016). Effects of *Acremonium terricola* culture on growth performance, antioxidant status and immune functions in weaned calves. *Livestock Science*. 193: 66–70.
- Magaña, J. M., Ríos, G. A., y Martínez, J. G. (2006). Los sistemas de doble propósito y los desafíos en los climas tropicales de México. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 14(3), 105-114.
- Maiti, S. K., Khimta, S., Bhadane, B., Kumar, N., y Sharma, A. K. (2009). Therapeutic evaluation of herbal "Immuplus" with or without doxorubicin in the management of canine mammary tumours. *Journal of Applied Animal Research*, 36(1), 103-108.

- Mediratta, P. K., Dewan, V., Bhattacharya, S. K., Gupta, V. S., Maiti, P. C., y Sen, P. (1988). *Effect of Ocimum sanctum* Linn. on humoral immune responses. *The Indian Journal of Medical Research*, 87, 384-386.
- Mediratta, P. K., Sharma, K. K., y Singh, S. (2002). Evaluation of immunomodulatory potential of *Ocimum sanctum* seed oil and its possible mechanism of action. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(1), 15-20.
- Mee, J. F., O'farrell, K. J., Reitsma, P., y Mehra, R. (1996). Effect of a whey protein concentrate used as a colostrum substitute or supplement on calf immunity, weight gain, and health. *Journal of Dairy Science*, 79(5), 886-894.
- Menke, K.E., and H. Steingass. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 27,7-55.
- Meydani, S. N., Wu, D., Santos, M. S., y Hayek, M. G. (1995). Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *The American journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1462S-1476S.
- Naylor, J. M., y Kronfeld, D. S. (1977). Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial immunodiffusion. *American Journal of Veterinary Research*, 38(9), 1331-1334.
- Okonkwo, C., Oladele, O. A., y Nwiyi, P. (2015). The Pattern of Immunomodulation of ImmuPlus on the Infectious Bursal Disease (IBD) Antibody of Vaccinated Broiler Chickens. *Journal of Veterinary Advances*, 1(5), 808-13.
- Oropeza Aguilar, M. I., Posadas Manzano, E., Cervantes Sánchez, J. M., y Ortiz Naranjo, O. (1998). Prevención de afecciones gastrointestinales mediante el uso de probióticos en becerros Hostein lactantes. *Veterinaria México*, 29(2), 197-201.
- Palacio, A., Lopez, M., Perez-Bravo, F., Monkeberg, F., y Schlesinger, L. (2002). Leptin levels are associated with immune response in malnourished infants. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(7):3040-3046.

- Pulido, S., Espinosa, A., Hernández, P.A. y Mendoza, G.D., (2019). Evaluation of a plant feed additive on rabbit performance and meat characteristics. *Journal of Applied Animal Research*. In press.
- Quigley, J. D., y Drewry, J. J. (1998). Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre-and postcalving. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2779-2790.
- Ravindra, P. V., y Chauhan, R. S. (2009). Immunopotentiating effect of Immuplus-A poly-herbal preparation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1), 324.
- Rijkers, G. T., Teunissen, A. G., Van Oosterom, R., y Van Muiswinkel, W. B. (1980). The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio L.*). *Aquaculture*, 19(2), 177-189.
- Roy, S., Tiwari, A. y Roy, M. (2003). Studies on the efficacy of herbal Zycox alone and in combination with ImmuPlus in caprine coccidiosis. *Phytomedica*, 4:29-33.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2014). Manual de producción de ganado lechero en el Estado de Nayarit. Consultado en agosto de 2017. Disponible en línea: http://infolactea.com/wp-content/uploads/2017/04/anu_96-25-2014-05-2.pdf
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2012). Proyecto del Consejo Nacional de los recursos genéticos Pecuarios A. C. Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios. Consultado en agosto de 2017. Disponible en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/irc/Memorias%20Documentales/Memorias%20Documentales.%20CONARGEN%202012.pdf>
- Sahoo, P. K., y Mukherjee, S. C. (2003). Immunomodulation by dietary vitamin C in healthy and aflatoxin B 1-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita*). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 26(1), 65-76.
- Sai Ram, M., Neetu, D., Deepti, P., Vandana, M., Ilavazhagan, G., Kumar, D., y Selvamurthy, W. (2003). Cytoprotective activity of Amla (*Embllica officinalis*) against chromium (VI) induced oxidative injury in murine macrophages. *Phytotherapy Research*. 17(4), 430-433.

- Sall J., Lehman A., Stephens M., Creighton L. (2012). 'JMP® Start Statistics: A Guide to Statistics and Data Analysis', 5th edn. (SAS Institute Inc: Cary, NC, USA).
- Sasaki, M., Davis, C. L., y Larson, B. L. (1976). Production and Turnover of IgG1 and IgG2 Immunoglobulins in the Bovine around Parturition1. *Journal of Dairy Science*, 59(12), 2046-2055.
- SE. Secretaría de Economía. Dirección general de industrias básicas. (2012). Análisis del Sector Lácteo en México. Consultado en agosto de 2017. Disponible en línea: http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf. Consultado en diciembre 2014.
- Sedlakova, J., Kocourkova, B. L. A. N. K. A., y Kuban, V. (2001). Determination of essential oils content and composition in caraway (*Carum carvi L.*). *Czech Journal of Food Sciences*, 19(1), 31-36.
- SIAP. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (2019a) Panorama de la Leche en México. Consultado en marzo de 2020. Disponible en línea: <http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20Bolet%C3%ADn%20de%20Leche%203er%20trimestre%202019%20PDF.pdf>.
- SIAP. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (2019b). Boletín de leche. Consultado en marzo de 2020. Disponible en línea: <http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Bolet%C3%ADn%20de%20Leche%20enero-septiembre%20202019%20env%C3%ADo.pdf>.
- Singh, S. S., Pandey, S. C., Srivastava, S., Gupta, V. S., Patro, B., y Ghosh, A. C. (2003). Chemistry and medicinal properties of *Tinospora cordifolia* (Guduchi). *Indian Journal of Pharmacology*, 35(2), 83-91.
- Soberon F., Raffrenato E., Everett R.W., Van Amburgh M.E. (2012). Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95 (2): 783–793.
- Stabel, J. R., Hurd, S., Calvente, L., y Rosenbusch, R. F. (2004). Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella spp.*, and *Mycoplasma spp.* in raw milk by a commercial on-farm high-temperature, short-time pasteurizer. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2177-2183.

- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., y France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185–197.
- Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D. C., Van Der Wal, E., Klaassen, G., y Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2154-2165.
- Uitz-Huchin, J. A., y Jaimes-Jaimes, J. (2012). Efecto de la adición de prebióticos y probióticos en el comportamiento de terneros lactantes Holstein. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 11(1).
- USDA. (2010). Heifer Calf Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations. USDA: APHIS: VS, CEAH, Fort Collins, CO.
- Uyeno, Y., Shigemori, S., y Shimosato, T. (2015). Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes and Environments*, 30(2), 126-132.
- Van Keulen, J., y Young B.A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2), 282-287.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch carbohydrates in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
- Vilaboa Arroniz, J., y Díaz Rivera, P. (2009). Caracterización socioeconómica y tecnológica de los sistemas ganaderos en siete municipios del estado de Veracruz, México. *Zootecnia Tropical*, 27(4), 427-436.
- Wanapat, M., Khejornsart, P., Pakdee, P., y Wanapat, S. (2008). Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2231-2237.
- Wawrzyńczak S., Kraszewski J., Wawrzyński M., y Kozłowski J. (2000). Effect of herb mixture feeding on rearing performance of calves. *Annals of Animal Science-Roczniki Naukowe Zootechniki*, (27), 133-142.

- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., y Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6), 569-577.
- Yam, T. S., Shah, S., y Hamilton-Miller, J. M. T. (1997). Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiology Letters*, 152(1), 169-174.
- Zhao, T., Wang, X., Rimando, A. M., y Che, C. T. (1991). Folkloric medicinal plants: *Tinospora sagittata* var. *cravaniana* and *Mahonia bealei*. *Planta Medica*, 57(05), 505-505.