



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
CENTRO UNIVERSITARIO UAEM AMECAMECA
MAESTRIA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EFFECTO DE PRODUCTOS HERBALES (*Azadirachta indica*, *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan*) SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE CORDEROS EN FINALIZACIÓN.

TESIS

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

PRESENTA:

MVZ. LESLI RODRIGUEZ MORENO

COMITÉ DE TUTORES:

DR. PEDRO ABEL HERNÁNDEZ GARCÍA

DR. ENRIQUE ESPINOSA AYALA

DRA. MA. EUGENIA DE LA TORRE HERNÁNDEZ

Amecameca de Juárez, Estado de México, noviembre 2021

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de 2.0% de un polihierbal (*Terminalia bellirica*, *Azadirachta indica* y *Chebulic myrobalan*) y el 0.5 y 1.0% de hojas de *A. indica* sobre el comportamiento productivo, fermentación ruminal y parámetros sanguíneos de ovinos en finalización. Siguiendo un diseño completamente al azar se emplearon cuarenta corderos Hampshire x Suffolk (22.92 ± 1.46 kg de peso inicial) durante 33 días de experimentación fueron alojados en jaulas metabólicas, los cuales se asignaron aleatoriamente a los tratamientos: 0.0% como control, 2.0 % de polihierbal, 0.5 y 1.0% de hojas de *Azadirachta indica*. El polihierbal y *A. indica* en la dieta no modificaron la respuesta productiva ni las variables ruminales ($P \geq 0.05$) sin embargo, el 1.0 % de *A. indica* mostro un incremento lineal ($P \leq 0.0001$) en la digestibilidad. El polihierbal incremento glucosa ($P \leq 0.1$) y disminuyo colesterol ($P \leq 0.1$), incremento el conteo de neutrófilos segmentados y disminuyo linfocitos ($P \leq 0.05$), albumina ($P \leq 0.1$) y fosfatasa alcalina ($P \leq 0.05$). Al emplear *A. indica* tuvo respuesta lineal en el conteo de monocitos ($P \leq 0.1$), un efecto cuadrático en volumen globular ($P \leq 0.1$) y eosinófilos ($p < 0.05$), un incremento lineal en albumina y fosforo ($P \leq 0.01$), una disminución lineal en globulina ($P \leq 0.01$), una disminución cuadrática en colesterol ($P \leq 0.01$), fosfatasa alcalina ($P \leq 0.01$) y aspartato aminotransferasa ($P \leq 0.05$). Con lo cual, se puede concluir que la inclusión del polihierbal no modifica la respuesta productiva y al adicionar *Azadirachta indica* mejora la digestibilidad, sin embargo, en ambos casos modifica algunos metabolitos sanguíneos de importancia.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	3
2.1.	La ovinocultura en México	3
2.2.	Alternativas a los antibióticos como promotores del crecimiento	4
2.3.	Principales aditivos en la nutrición animal	5
2.3.1.	Probióticos	5
2.3.2.	Prebióticos	6
2.3.3.	Enzimas	7
2.3.5.	Fitogénicos/ Fitobióticos	8
2.4.	Metabolitos secundarios de las plantas.	9
2.4.1.	Saponinas	11
2.4.2.	Taninos	12
2.4.4.	Componentes fenólicos	14
2.4.5.	Polifenoles	14
2.4.6.	Flavonoides	15
2.5.	<i>Azadirachta indica</i> (Neem)	16
2.6.	Terminalia	20
2.6.1.	<i>Terminalia bellirica</i>	21
2.6.2.	<i>Terminalia Chebula</i>	22
2.6.2.1.	<i>Chebulic myrobalan</i>	23
2.7.	Empleo de plantas en los animales	25
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
4.	HIPOTESIS	30
5.	OBJETIVO GENERAL	31
5.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
6.	MATERIAL Y METODOS	32
6.1.	Lugar de estudio	32
6.2.	Animales y Dietas	32
6.3.	Comportamiento productivo	34

6.4.	Colección de Muestras	35
6.4.1.	Digestibilidad	35
6.4.2.	Fermentación ruminal	35
6.4.3.	Química sanguínea y Biometría hemática	35
6.5.	Análisis estadístico	36
7.	RESULTADOS	37
8.	CONCLUSIÓN	38
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUCCIÓN

Los cambios que obedecen las tendencias de consumo han hecho que los nutricionistas animales modifiquen sus protocolos con el objetivo de promover la salud animal, mejorar el rendimiento del crecimiento, la eficiencia de la alimentación y la calidad del producto final, para proporcionar a los consumidores un producto con menos residuos sintéticos y químicos, regulando así el impacto sobre el medio ambiente (Wanapat *et al.*, 2015; Mendel *et al.*, 2017), por esta razón se deben diseñar alternativas adecuadas y sostenibles, una de ellas es emplear aditivos naturales a base de plantas que tengan propiedades fitobióticas (Hashemi *et al.*, 2014; Jack *et al.*, 2020).

Plantas como *Azadirachta indica*, *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan* se han empleado en la alimentación de animales debido a los múltiples efectos benéficos que generan (Choubey *et al.*, 2015; Dharmaratne *et al.*, 2018). *A. indica* se ha incorporado a la alimentación de ovinos y ha funcionado como promotor del crecimiento ya que se le atribuye una mejor eficiencia en la utilización del alimento, debido a la reducción de la pérdida de energía en forma de metano, lo que confiere a una mejor respuesta productiva (Jack *et al.*, 2020), *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan* presentan potencial antioxidante debido al contenido de metabolitos como ácido quebulico y ácido gálico que funcionan como estabilizadores enzimáticos, aumentando la viabilidad celular, reduciendo los radicales libres y eliminando especies reactivas de oxígeno protegiendo a las células hepáticas de un daño oxidativo (Pfundstein *et al.*, 2010; Feng *et al.*, 2021). Además *T. bellirica* y *T. chebula* mejoran el perfil lipídico al reducir los niveles séricos de colesterol previniendo la peroxidación lipídica (Bag *et al.*, 2013; Gupta *et al.*, 2020).

Los beneficios que los aditivos herbales proporcionan se deben a la sinergia de sus metabolitos secundarios ya que se espera que potencialice su respuesta (Wallace, 2004; Lakhani *et al.*, 2018), azadiractina ha mostrado un potencial antibacteriano destruyendo las biopelículas que forman algunas bacterias, tiene propiedades insecticidas y un potencial antioxidante (Quelmes *et al.*, 2015; Maufuo *et al.*, 2019), por otra parte, los fenoles de *T. bellirica* y *T. chebula* tienen un efecto antibacteriano

contra *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (Li *et al.*, 2011; Dharmaratne *et al.*, 2018) nimbin, nimbidin con propiedades desparasitantes (Jack *et al.*, 2019), los polifenoles actúan como antioxidantes al retardar la oxidación de lípidos eliminando los radicales libres, con lo anterior se espera extender la vida útil de la carne (Cock, 2015; Rastogi *et al.*, 2018), por otra parte, las saponinas mejoran la digestibilidad, promoviendo la población de bacterias y hongos del rumen y pueden reducir los protozoarios ciliados, los taninos mejoran la absorción de proteínas ya que las protegen de la degradación ruminal mediante un quelatado, liberándolas para su aprovechamiento en duodeno (Dida *et al.*, 2019; Jack *et al.*, 2019), además las saponinas reducen la proporción de acetato y mejoran la concentración de propionato sin afectar los ácidos grasos volátiles totales (Kamra *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009).

El uso de estas plantas también tiene un efecto sobre el metabolismo energético reduciendo el colesterol, debido al efecto de los terpenos y limonoides (Ogbuewu *et al.*, 2017; Mafuo *et al.*, 2019) además, se ha reportado que el ácido gálico y los polifenoles presentes en *T. bellirica* reducen los niveles de glucosa (Sobeh *et al.*, 2019; Gupta *et al.*, 2020). Estos aditivos herbales tienen un efecto inmunoestimulante debido a su actividad captadora de radicales libres mejorando la activación de los macrófagos (Belapukar *et al.*, 2014), también pueden neutralizar los mediadores inflamatorios y se ha observado un aumento significativo en el recuento de neutrófilos los cuales tienen el potencial de mejorar la inmunidad contra infecciones (Chahar *et al.*, 2012).

Por esta razón, se realizó un ensayo experimental con el objetivo de evaluar los cambios en parámetros productivos, características ruminales y sanguíneas de ovinos en finalización con la inclusión de 0.0, 2.0 % de materia seca de Mebogrow® una mezcla polihierbal (*Terminalia bellica*, *Azadirachta indica* y *Chebulic myrobalan*) y 0.5 y 1.0 % de materia seca de hojas de *Azadirachta indica*.

2. ANTECEDENTES

2.1. La ovinocultura en México

La ganadería es uno de los sectores agrícolas de más rápido crecimiento en los países en desarrollo debido a la demanda de productos pecuarios impulsada por el crecimiento de la población, la urbanización y el aumento de los ingresos (Wanapat *et al.*, 2015). Esto representa una gran oportunidad para que los ganaderos de los países en desarrollo además de satisfacer la producción local en el futuro contribuyan con la expansión de la producción agrícola, este sector necesita formar parte del sector global para que se beneficie de una mayor demanda y que esto modere el impacto que se genera en el medio ambiente (Wanapat *et al.*, 2015; Jack *et al.*, 2020).

En México, la producción de ovinos como actividad pecuaria es de gran importancia socioeconómica, la cual ha ido en crecimiento y se espera mejore el desarrollo de la industria nacional proporcionando a la población alimentos, materias primas y empleo, en las últimas décadas la ovinocultura dejó de ser una actividad de traspatio para convertirse en una de las actividades pecuarias más rentables ya que se realiza en una amplia gama de sistemas productivos, que van desde los sistemas de tipo tradicional, orientados principalmente hacia el autoconsumo de las familias hasta los altamente tecnificados e integrados, según el nivel tecnológico alcanzado se pueden clasificar como extensivos, semiintensivos e intensivos (Pérez *et al.*, 2011; Vázquez-Martínez *et al.*, 2018).

Esto posiciona a la ovinocultura como una alternativa para incrementar el ingreso económico de las unidades de producción, debido a que los ovinos tienen una gran adaptabilidad biológica, en consecuencia la industria durante los últimos años ha desarrollado estrategias alimentarias como concentrados integrales para la finalización de ovinos pero aunque se observa una mejora en los parámetros productivos en un punto estos aumentan el riesgo de que se presenten enfermedades metabólicas como la acidosis subaguda y la presencia de cálculos urinarios (Plata *et al.*, 2004; Mendoza *et al.*, 2007).

Uno de los problemas a los que se enfrenta la ovinocultura en México es al alto costo de producción por concepto de alimentación, adicionando la mano de obra y la sanidad, este es un gran reto para los ovinocultores ya que debido a estos factores impiden satisfacer la demanda nacional y se debe recurrir a la importación, pese a lo anterior, México ha realizado cambios en la producción ovina nacional, en vista del desarrollo de sistemas intensivos de producción completamente estabulados o de tipo mixto, en los que se mantiene al pie de cría en pastoreo y se finaliza a los corderos en corral, tanto en el altiplano como en condiciones tropicales se han reportado avances positivos para la ganadería en el país (Partida de la Peña *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2011).

2.2. Alternativas a los antibióticos como promotores del crecimiento

En 2006 la Unión Europea indico que los antibióticos utilizados en el ganado como potenciadores de la producción serían prohibidos a causa de la posibilidad de que las poblaciones bacterianas incrementan su resistencia a los antibióticos en muchas bacterias patógenas humanas y además de la liberación de residuos contaminantes al medio ambiente, con esto se terminan casi 50 años de uso de antibióticos para fines no terapéuticos, incluidos los ionóforos, esta prohibición tendrá una expansión en el resto del mundo, a causa de lo anterior se requiere una búsqueda de medios alternativos que generen beneficios sobre los animales, mejoren la eficiencia alimentaria, la calidad del producto final, y así satisfacer la demanda por parte de los productores y consumidores de productos seguros libres de contaminantes de origen químico o sintético (Wang y Zhou, 2007; Wallace *et al.*, 2004).

Una de las alternativas que se plantea es la utilización de aditivos alimentarios, los cuales pueden ofrecer algunos de los beneficios que se observaban con el uso de los antibióticos pero de una forma natural y segura para la cadena de producción y consumo (Jouany y Morgavi, 2007; Mendel *et al.*, 2017). Estos productos se han utilizado en la nutrición animal con el fin de mejorar la productividad y el rendimiento, la calidad de los alimentos sin afectar la salud de los animales, por su naturaleza se pueden clasificar en probióticos, prebióticos, enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas, aditivos herbales y extractos vegetales (Hanshemi *et al.*, 2011).

Los aditivos alimentarios optimizan algunas funciones del rumen en beneficio de los ovinos ya que proporcionan una disminución de la producción de metano a favor del propionato, mejorando el equilibrio energético, reducen la degradación de proteína del alimento aumentando la biodisponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado, se reduce la tasa de degradación de carbohidratos fermentables rápidamente como el almidón y sacarosa, se controla la concentración de ácido láctico y mejora de la digestión de la fibra (Mendel *et al.*, 2017). En la búsqueda de estos beneficios se ha observado que dichos efectos se deben a las propiedades bioactivas de los metabolitos secundarios de las plantas, estas propiedades se definen debido a la capacidad de un compuesto para provocar efectos farmacológicos en humanos y animales (Durmick y Blanche, 2012).

2.3. Principales aditivos en la nutrición animal

2.3.1. Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser adicionados a la alimentación en cantidades adecuadas otorgan efectos beneficiosos para la salud de los rumiantes, las que se emplean con mayor frecuencia son *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus* y *Saccharomyces* (Chaucheyras-Durand y Durand, 2010). Los principales efectos que se pueden observar en los probióticos son su regulación de la homeostasis microbiana intestinal, estabilización de la función de barrera gastrointestinal, actividad antimicrobiana, la supervivencia en el tracto gastrointestinal y su capacidad de adhesión (Gaggía *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que generan un aumento de la actividad de los fagocitos, la proliferación de leucocitos y la producción de anticuerpos, existen probióticos que resisten al estrés que se someten los alimentos durante la manipulación y el almacenamiento, en el organismo promueven un equilibrio benéfico en la microbiota intestinal y mejoran la respuesta inmune ya que compiten con los patógenos por los nutrientes, cuando se incluyen en la dieta de los animales durante períodos estresantes para la microbiota intestinal y el animal como el destete, al comienzo de lactancia y después de un cambio en la dieta los probióticos han aportado efectos

significativos en los parámetros productivos (Chaucheyras-Durand y Durand, 2010; Roos, *et al.*, 2018). Existen factores que se deben tomar en cuenta al momento de administrar probióticos entre ellos la viabilidad y las concentraciones derivadas de bacterias viables de las preparaciones probióticas en el momento de la administración a los animales, una dosis más alta administrada por un período corto de tiempo parece ser más efectiva que las dosis más bajas, además de la edad de los animales ya que los animales recién nacidos son susceptibles a los patógenos ambientales (Gaggia *et al.*, 2010).

2.3.2. Prebióticos

Los prebióticos son sustancias no digeribles, principalmente oligosacáridos, que estimulan el crecimiento de bacterias promotoras de la salud en el tracto gastrointestinal, los lactobacilos y las bifidobacterias, reducen las bacterias patógenas al competir por sus sitios de fijación en el intestino, dentro de ellos se pueden encontrar los mananoligosacáridos, fructooligosacáridos, celololigosacáridos, inulina y galactosillactosa (Gaggia *et al.*, 2010; Velasquez-Munoz *et al.*, 2019). Uno de los productos que se emplean con mayor frecuencia son los mananoligosacáridos, es un derivado de la pared celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, los prebióticos se han empleado en la reducción de diarrea neonatal de terneros y se ha observado una mejora significativa en el crecimiento y el rendimiento durante la etapa preruminal, sin embargo, los efectos de los prebióticos sobre el rendimiento, la salud y la inmunidad no han sido consistentes (Gosh y Melha, 2012; Velasquez-Munoz *et al.*, 2019).

Para que un aditivo se clasifique como prebiótico, se requieren al menos tres criterios: no debe hidrolizarse ni absorberse en el estómago o el intestino delgado, debe ser selectivo para bacterias comensales beneficiosas en el intestino como las bifidobacterias, la fermentación debe inducir efectos luminales beneficiosos dentro del animal (Gaggia *et al.*, 2010; Gosh y Melha, 2012).

2.3.3. Enzimas

Las enzimas que se emplean en la industria para la alimentación del ganado son productos de la fermentación microbiana, estas enzimas se producen mediante un proceso de fermentación comenzando con un cultivo de semillas y un medio de crecimiento, cuando se completa este paso la proteína enzimática se separa de los residuos de fermentación y del organismo fuente, la actividad que se presenta en las enzimas producidas puede variar según el sustrato de crecimiento, la cepa seleccionada y las condiciones de cultivo utilizadas (Bedford y Cowieson, 2012).

Se han empleado enzimas fibrolíticas como aditivos alimentarios en condiciones *in vitro*, *in sacco* e *in vivo*, con el fin de mejorar la degradación de la fibra, pero se han encontrado respuestas muy variables, ya que su efecto depende de varios factores como el tipo enzima, la dosis empleada, edad, el sexo del animal y el tipo de dieta que se emplea (Almaraz *et al.*, 2010; Bedford y Cowieson, 2012). La suplementación con enzimas fibrolíticas exógenas mejora la fermentación ruminal y aumenta la degradación de las paredes celulares del forraje, reduciendo potencialmente los costos de alimentación y manteniendo el rendimiento productivo de los rumiantes, se han reportado efectos positivos como suplementos para rumiantes sobre la fibra detergente neutra, la digestibilidad, la producción de ácidos grasos volátiles totales, proporción de ácido propiónico, relación acetato: propionato, la ingesta de materia seca, producción de leche y ganancia diaria de peso (Bedford y Cowieson 2012; Tirado-González *et al.*, 2017).

2.3.4. Aceites esenciales

Estos compuestos son líquidos oleosos generados por plantas aromáticas, entre sus características tienen un olor y sabor intenso que varía según su composición, se extraen mediante un proceso de destilación al vapor con disolventes orgánicos o hidrodestilación (Wallace, 2004; Jouanny y Morgavi, 2007). Los aceites esenciales tienen un papel importante en la protección de las plantas ya que actúan como antibacterianos, antifúngicos, antivirales, insecticidas, estos compuestos también pueden atraer algunos insectos para favorecer la dispersión de pólen y semillas o para disuadir a ciertos animales depredadores (Bakkali *et al.*, 2008). Los

componentes que contienen en los aceites esenciales tienen un origen biosintético diferente y se pueden dividir en dos grupos terpenos: monoterpenos, diterpenos y sesquiterpenos, terpenoides y triterpenoides, algunos ejemplos más empleados son Linalol, timol, carvona, carvacrol, citral y limoneno (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018). El potencial antibacteriano de los aceites esenciales radica en que son lipofílicos, esta característica permite que interactúen con la membrana celular de las bacterias, lo que explica su toxicidad generalmente contra bacterias Gram positivas, y debido a la cápsula externa que tienen las bacterias Gram negativas se protegen contra los aceites esenciales, aunque algunas moléculas de los aceites son pequeñas y pueden acceder a la membrana interna de las bacterias Gram negativas. y dañarlas, por ejemplo, los aceites de *Cinnamomum osmophloeum* tienen un potencial antibacteriano contra *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* y *Vibrio parahemolyticus*, observado que es debido a el cinamaldehído que tiene potencial antibacteriano (Chao *et al.*, 2000; Polin *et al.*, 2014), plantas que son ricas en monoterpenos logran mejores tasas de inactivación de bacterias y menos efectos adversos sobre las propiedades organolépticas (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018).

2.3.5. Fitogénicos/ Fitobióticos

Son compuestos provenientes de las plantas o las partes que las componen, se han utilizado en medicina humana y veterinaria para prevenir enfermedades, mejorar el rendimiento productivo, ayudando en síndromes relacionados con problemas metabólicos y estrés, también mejoran el sistema inmune, estos aditivos fitogénicos son productos derivados de las plantas que se agregan a las dietas de los animales con el fin de mejorar la calidad del alimento, promover el crecimiento y el rendimiento, contrarrestar los factores anti nutritivos, absorber toxinas, contribuir en las deficiencias de nutrientes, influir en la producción animal, mejorando el bienestar y la salud de los animales; estos aditivos pueden actuar como antibacterianos, coccidiostáticos o histomonostáticos, tienen un efecto positivo en la fermentación ruminal ya que se ha observado una reducción en la producción de metano en el rumen y mejoran la eficiencia de la fermentación ruminal ya que estos representan

el 44 % de los gases de efecto invernadero emitidos al medio ambiente, además estos aditivos pueden actuar como una fuente antioxidante y antiinflamatoria (Windisch *et al.*, 2008; Hashemzadeh-Cigari *et al.*, 2014; Mendel *et al.*, 2017).

Se ha descrito que emplear mezclas de plantas puede potencializar la respuesta de cada componente hasta en un 29 % y ejercer un mejor efecto como antimicrobiano o antioxidante (Mendel *et al.*, 2017; Roos *et al.*, 2018), es así que las plantas pueden servir como fuente potencial para mitigar el problema de la resistencia antimicrobiana, estos productos herbales sintetizan una amplia gama de metabolitos secundarios que han sido extraídos y concentrados para su uso en nutrición animal por su valor aromático, como agentes saborizantes en los alimentos, por su actividad antimicrobiana, su capacidad para influir en la digestión de algunos ingredientes, como moduladores de la población microbiana ruminal y antioxidantes (Jouany *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2017; Mendel *et al.*, 2019). Existen reportes que indican que la suplementación dietética de semillas, hojas y su combinación reducen la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) totales, acetato y propionato, esta disminución de AGV podría deberse a la actividad antimicrobiana de los aditivos, que puede haber disminuido las actividades de fermentación del bioma ruminal (Odhaib *et al.*, 2018).

El uso de plantas se ha probado también en vacas con enfermedades metabólicas como cetosis, en donde se han empleado como tratamiento observando una mejora el rendimiento de la leche hasta en un 50 % después de la recuperación, no se modifica el pH ruminal, mejora la digestibilidad hasta un 8.0 % más que animales sin la adición de plantas, es así que la búsqueda de estrategias naturales que se utilicen en la nutrición animal para mejorar la productividad y la salud de los animales adquiere un interés mayor, sobre todo que el uso de los mismos aumente la calidad de los alimentos de origen animal (Mendel *et al.*, 2017).

2.4. Metabolitos secundarios de las plantas.

En consecuencia, a los cambios en la legislación en cuanto a la restricción en el uso de fármacos para animales se genera una demanda real entre los productores y los consumidores de buscar alternativas de productos naturales con propiedades

únicas que sean seguros en la cadena de suministro de alimentos, existen sustancias naturales que se puedan utilizar de manera segura en los animales, pero es necesario comprender el funcionamiento de los compuestos bioactivos que contienen, estos componentes son llamados fitoquímicos y se les confieren los beneficios que las plantas ofrecen, además del uso histórico y farmacológico existen estudios que sugieren que los efectos medicinales de las plantas son una herramienta que en el campo se puede emplear para generar tratamientos alternativos con el fin de descubrir fármacos naturales (Wallace, 2004; Bodas *et al.*, 2012).

Las plantas producen compuestos químicos como parte de sus actividades metabólicas normales y como protección natural contra el ataque de insectos y otros organismos, estas moléculas se dividen en metabolitos primarios, como azúcares y grasas y metabolitos secundarios o fitoquímicos los cuales son moléculas biológicamente activas que no participan en procesos bioquímicos primarios como crecimiento o reproducción (Wallace, 2004; Kamra *et al.*, 2006; Gupta y Abu-Ghannam, 2011), el término metabolito secundario fue introducido por Albrecht Kossel en 1891 (Patra y Saxena, 2010), estas moléculas se han empleado en medicamentos o en la conservación de alimentos y se han reportado más de 200,000 tipos, la concentración de metabolitos en las plantas y su actividad está influenciada por la ubicación geográfica, condiciones climáticas, época de recolección, método de procesamiento y almacenamiento (Bodas *et al.*, 2008; Patra y Saxena, 2010).

Es por eso que los metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas poseen varias actividades biológicas debido a que influyen en los procesos metabólicos de animales o modulan selectivamente las poblaciones microbianas del rumen, los metabolitos se clasifican de acuerdo a sus vías metabólicas de síntesis, sus propiedades y mecanismos de acción, estas sustancias generalmente pueden estructurarse en saponinas, taninos, terpenos, flavonoides y fenoles (Patra y Saxena, 2011; Bodas *et al.*, 2012).

2.4.1. Saponinas

Son un grupo de glucósidos de alto peso molecular y se clasifican generalmente en dos grupos dependiendo de la naturaleza de la agliconas (sapogenina): saponinas esteroides y saponinas triterpenoides (Patra y Saxena, 2010; Mendel *et al.*, 2017), la capacidad de formar espuma es una de sus propiedades más importantes y esto se debe a la combinación de la sapogenina no polar y el azúcar soluble en agua (Jouany y Morgavi, 2007).

Estos metabolitos al adicionarse en la alimentación de rumiantes se ha reportado que el crecimiento, la eficiencia alimentaria y la salud mejoran considerablemente, ya que se ha observado una reducción en el recuento de los protozoarios ciliados ruminales lo que incrementa la síntesis de proteínas microbiana en el rumen, esto hace que el flujo intestinal de aminoácidos aumente, con esto la inclusión de saponinas podría aumentar la producción de los ácidos grasos volátiles, como el propionato a causa de la canalización de hidrógeno del metano al propionato, esto indica que disminuye la relación acetato: propionato y el butirato, esto es beneficioso para los rumiantes desde el punto nutricional ya que la inclusión de plantas que contienen saponinas mejoran la asimilación de nitrógeno del alimento por los animales porque se produce menos NH₃ en el rumen y se elimina menos urea en la orina (Lila *et al.*, 2005; Patra y Saxena, 2011).

Las saponinas aumentan la permeabilidad de las células intestinales, estas moléculas actúan en la parte distal del tracto digestivo y debido a su capacidad para formar complejos con esteroides en las membranas de las células mucosas mejoran la absorción de sustancias con dificultad de absorción (Jouany y Morgavi, 2007). De igual forma, estos metabolitos tienen propiedades antibacterianas, probablemente alteran las membranas bacterianas al aumentar su porosidad y debido a que forman espuma aumenta la tensión superficial y acelera la lisis de las células microbianas, un factor importante al momento de administrar saponinas en la alimentación es que estas pueden ser degradadas o inactivadas por algunos componentes salivales aún no identificados (Wallace, 2004; Jouany y Morgavi, 2007)

2.4.2. Taninos

Estos metabolitos son polímeros polifenólicos que generalmente se clasifican en dos: taninos hidrolizables, formados por un núcleo de carbohidratos con grupos hidroxilo que están esterificados con ácidos fenólicos, principalmente gálicos y hexahidroxidifenicos y taninos condensados que contienen polímeros no ramificados de unidades de flavonoides, se ha observado que durante la floración de las plantas existe un exceso de carbono y es el momento en que se sintetizan los taninos (Frutos *et al.*, 2004; Patra y Saxena, 2010). Los taninos eran conocidos por tener propiedades anti nutritivas pero debido al efecto antimicrobiano que ejerce pueden ser utilizados con el fin de favorecer las condiciones ruminales ya que se ha observado una modificación en la biohidrogenación de ácidos grasos reduciendo la producción de metano ya que este afecta de forma negativa a las bacterias celulolíticas y a la fermentación anaeróbica de carbohidratos a ácidos grasos de cadena corta como el acetato, reduciendo así la formación de CO₂ y H₂ (Frutos *et al.*, 2004; Bodas *et al.*, 2012).

Los taninos tienen una gran afinidad por las proteínas debido a la presencia de grupos hidroxilo fenólicos, estos interactúan con las proteínas a través de enlaces de hidrógeno, estos metabolitos forman uniones tanino-proteína con la finalidad de evitar la degradación de proteínas en el rumen (Jouany y Morgavi, 2007; Patra y Saxena, 2010), la unión de tanino-proteína se desintegra en el abomaso, las proteínas que muestran la mayor afinidad por los taninos son relativamente grandes e hidrófobas, y contienen prolina (Patra y Saxena, 2010; Mendel *et al.*, 2017). También se ha observado que la agrupación tanino-proteína que resiste al ambiente ruminal puede no ser digerida en el tracto inferior considerando que podría disminuir la digestibilidad de la proteína cruda (Frutos *et al.*, 2004; Oidhaid *et al.*, 2018).

Otras respuestas que se han observado al emplear taninos son: una mejora en el rendimiento productivo de los animales, reducen la ingesta de materia seca, interfieren con el metabolismo del nitrógeno, inhiben el crecimiento de bacterias proteolíticas reduciendo la proteólisis y aumentando el flujo de nitrógeno no amoniacal en el intestino para su absorción, también se ha observado que al incluir

de taninos en las dietas para animales se enriquece el contenido de isómeros cis y trans ácidos linoleicos en la carne, otra característica de los taninos es que ejercen una actividad de eliminación de radicales libres, cambian la excreción de nitrógeno de la orina a las heces, inhiben las actividades de las arqueas metanogénicas y pueden reducir la digestión de las fibras en el rumen en consecuencia se puede disminuir la producción de metano y es beneficioso para los animales y para el medio ambiente (Frutos *et al.*, 2004; Patra y Saxena, 2011; Mendel *et al.*, 2017).

2.4.3. Terpenos

Estos metabolitos también llamados isoprenoides son productos con propiedades aromáticas, su estructura se compone de varias unidades base de cinco carbonos formados a partir de unidades de isopreno, se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno, entre los que se encuentran los monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), hemiterpenos (C5), diterpenos (C20), triterpenos (C30) y tetraterpenos (C40), a un terpeno que contiene oxígeno se llama terpenoide (Poulopoulou y Hadjigeorgiou, 2020).

Los monoterpenos (C10) son una de las moléculas más representativas, hidrocarburos naturales compuestos por la condensación de dos isoprenos, son un componente de los aceites aromáticos extraídos de hojas que constituyen el 90 % de los aceites esenciales, La biosíntesis de los terpenos consiste en la síntesis del precursor de isopentenil difosfato, para formar el precursor de prenildifosfato, generalmente se modifica el prenildifosfato alílico por sintetasas específicas de terpeno y así formar el esqueleto terpénico y finalmente existe una modificación enzimática secundaria por una reacción redox del esqueleto para atribuir propiedades funcionales a los diferentes terpenos (Sharma *et al.*, 2017; Poulopoulou y Hadjigeorgiou, 2020; Bakkali *et al.*, 2008).

Se ha evaluado su capacidad para modular la función ruminal, pueden inhibir la digestión ruminal y reducir las emisiones de metano, estos metabolitos tienen la capacidad en dosis altas (300, 3000 mg / L) de modificar el ambiente microbiano del rumen (Bakkali *et al.*, 2008; Poulopoulou y Hadjigeorgiou, 2020).

2.4.4. Componentes fenólicos

Los fenoles tienen al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, y de acuerdo a su función de origen biosintético se pueden clasificar en flavonoides y polifenoles y algunos otros como estilbenos, ácidos fenólicos y lignanos, estos metabolitos se sintetizan a partir de unidades de acetil-CoA por polimerización y se agrupan de acuerdo con el número de unidades de acetato como: tetracétidos, pentapeptidos, hexapeptidas, heptapeptidas (Bodas *et al.*, 2012). Estos compuestos se sintetizan principalmente en el retículo endoplasmático de las plantas a través de procesos de canalización metabólicas los cuales se acumulan en las vacuolas y las paredes celulares después de la polimerización, principalmente con azúcares o ácidos orgánicos (Bidel *et al.*, 2010). Los fenoles son capaces de aumentar la resistencia al daño oxidativo que ocasionan los radicales libres, este efecto depende de la donación de hidrógeno de los grupos hidroxilo y de su grado de interacción de la membrana, estos compuestos cambian el potencial redox y eliminan el peroxinitrito indicando que los fenólicos oxidados son reciclados por el sistema de regeneración de ascorbato y ascorbato enzimático que mantiene la homeostasis redox en las plantas, además los compuestos fenólicos pueden reducir la activación de NFκB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) inducida por citocinas proinflamatorias a través de mecanismos moleculares (Bidel *et al.*, 2010; Zhang y Tsao 2016).

2.4.5. Polifenoles

Son la segunda familia más grande de nutraceuticos vegetales y se pueden encontrar en plantas, frutas, verduras y cereales, cuentan con uno o más grupos hidroxilo, están unidos a un anillo de fenilo y se biosintetizan a partir de fenilalanina o tirosina, aunque no participan en el crecimiento de las plantas son responsables de protegerlas contra la radiación ultravioleta o los ataques de bacterias, virus u hongos (Papuc *et al.*, 2017; Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018). Estas moléculas pueden tener anillos aromáticos que llevan más de un grupo hidroxilo (Zhang y Tsao 2016), se ha observado que dada la cantidad de anillos de fenol y los elementos estructurales que los unen, los polifenoles se pueden clasificar en diferentes

categorías, una de ellas es: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Ishida *et al.*, 2015; Ding *et al.*, 2018).

Su principal característica es el efecto antioxidante que proporciona debido a las agrupaciones de los grupos hidroxilo, esta característica hace que se puedan donar átomos de hidrógeno o electrones, neutralizando los radicales libres y otro oxígeno reactivo esto hace que los polifenoles protejan a los componentes celulares contra el daño oxidativo y así reducir el riesgo de trastornos degenerativos (Zhang y Tsao, 2016), así mismo la actividad antiinflamatoria de estos compuestos radica en inhibir la ciclooxigenasa-2 (COX-2), lipooxigenasa y enzimas de óxido nítrico sintasa inducible (Guo *et al.*, 2009), otra característica de estos metabolitos es la actividad antibacteriana, esta puede deberse a la capacidad que tienen para quelar el hierro, el cual es vital para la supervivencia de casi todas las bacterias, se ha observado que pueden desintegrar la membrana externa, liberando lipopolisacáridos y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática (Papuc *et al.*, 2017). Los polifenoles también pueden modular las respuestas inmunes al afectar los mecanismos epigenéticos, como la metilación reguladora del ADN, la modificación de histonas y la represión postranscripcional mediada por microARN que alteran la expresión de genes que codifican factores inmunes clave (Ding *et al.*, 2018). Se ha observado una tendencia al aumento del pH al incluir polifenoles en las dietas, esto podría deberse al aumento en la producción de saliva y los cambios en su composición, la saliva tiene una importante capacidad de amortiguación en el rumen (Odhaib *et al.*, 2018).

2.4.6. Flavonoides

Estas moléculas son sintetizadas por las plantas a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina, y malonato, constan de quince carbonos que están dispuestos en una configuración C6-C3-C6 con dos anillos aromáticos (anillos A y B) unidos por un puente de tres carbonos que suele ser un anillo heterocíclico, podrían ser la clase más importante de polifenoles (Khalid *et al.*, 2019; Olagary y Bradford, 2019), estos metabolitos pueden ser clasificados dependiendo de la unión de sus anillos por ejemplo una isoflavonas está conformada por un anillo B unido en

la posición tres del anillo C, si el anillo B se une en la posición cuatro se llaman neoflavonoides, si el anillo B se encuentra en la posición dos se subdivide en varios subgrupos, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, flavanoles o catequinas (Patra y Saxena, 2010; Olagaray y Bradford, 2019). Los principales compuestos flavonoides son las quercetinas, flavonas, flavonoles, cuya estructura es un grupo hidroxilo en la posición tres, flavanonas (2-3 enlace saturado), flavantriol, isoflavonas estos suelen permanecer unidos con azúcares como glucósidos y considerando su conformación se expresan sus efectos, por ejemplo, un mayor grado de hidroxilación se asocia con una mayor actividad antioxidante (Balasundram *et al.*, 2006).

Estos metabolitos son los responsables en dar el color, el sabor, la protección de las enzimas y los compuestos vitamínicos evitando la peroxidación lipídica de los alimentos, la forma en que los animales los consumen es en forma de glucósidos, estos son hidrófilos y para ser absorbidos en el intestino deben ser hidrolizados (Faggio *et al.*, 2017). Una de las propiedades de estas sustancias bioactivas es su efecto antioxidante; son capaces de capturar a las especies reactivas de oxígeno (ROS) y así mismo limitar su formación ya sea inhibiendo enzimas o quelando oligoelementos que participan en la generación de radicales libres a través de la reducción de H₂O₂ y la generación de OH (Faggio *et al.*, 2017).

La biodisponibilidad de los flavonoides cambia a medida que se desarrolla un rumiante, debido a cambios en la permeabilidad intestinal, la capacidad de absorción y la colonización microbiana (Oligary y Bradford, 2019), estos compuestos están presentes en la epidermis de las hojas y cascaras, se ha observado que al incluir flavonoides en la dieta las poblaciones de protozoarios ciliados se reducen hasta el 60 % los cuales que son una parte importante en la metanogénesis (Patra *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2015).

2.5. *Azadirachta indica* (Neem)

Azadirachta indica es un árbol de hojas, perenne y tropical nativo de la India (Subapriya y Nagini, 2005; Alzohary, 2016), es tolerante a la sequía y a las precipitaciones de hasta 130 mm por año, prospera en suelos secos, pedregosos,

poco profundos e incluso en suelos que tienen durezas calcáreas o arcillosas, requiere poca agua y mucha luz solar, tolera un amplio rango de pH (4 y 10), las frutas, semillas, aceite, hojas, corteza y raíces se han empleado en la medicina durante más de 4000 años debido a sus propiedades medicinales, se puede encontrar hasta en 78 países y se estima que la incidencia global es de 64 a 91 millones de árboles, con un rendimiento de 0,35 toneladas por árbol maduro y 5 a 50 toneladas / hectárea de rendimiento de biomasa por año (Rao *et al.*, 2016; Dida *et al.*, 2019).

Entre las propiedades de *A. indica* se han reportado concentraciones de proteína cruda de 17.5 y 20 % dichas variaciones se deben a las variedades de las hojas, niveles de fibra detergente neutra de 38.0 % y fibra de detergente ácido de 27.0 %, niveles de extracto libre de nitrógeno de 53.9 % (Jawad *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2019). Por otra parte, se han realizado estudios en donde reportan los valores nutricionales en las hojas de *A. indica*: 9.0 % de humedad, 16 % de fibra cruda, 4.25 % de extracto etéreo, 7.0 % de cenizas totales y 42.78 % de extracto libre de nitrógeno, además contiene minerales como Calcio 0.71 %, Fosforo 0.28 %, Magnesio 0.75 %, Sodio 0.58 %, Potasio 2.0 % y micro minerales (ppm) como: Cobre 34, Zinc 18, Hierro 745, Cobalto 10, Maganeso 60 y Cromo 0.8 esto convierte al Neem en una fuente importante de proteína y carbohidratos fácilmente fermentables en la alimentación de rumiantes (Ansari *et al.*, 2012; Sujarwo *et al.*, 2016).

En las hojas de *A. indica* se han identificado más de 140 metabolitos entre ellos se encuentran taninos 9.38 %, saponinas 2.80 %, compuestos fenólicos 6.53 % que influyen en la actividad antioxidante de la planta al inactivar radicales libres de lípidos, previenen la descomposición de hidroperóxidos en radicales o quelatan iones metálicos y proteger contra los patógenos, oxalatos 0.63 %, flavonoides como la quercetina, tirpenoides: Azadirachtin 0.024 %, nimbin 112 µg / g, nimbanene, 6-desacetylnimbinene, nimban-diol, nimbolide y ácido ascórbico, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, 7-desacetyl-7-benzoylgedunin, 17-hydroxyazadiradione, nimbiol y limonoides como la miliacina forma los principios amargos de sus hojas (Subapriya y Nagini, 2005; Hossain *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2013).

Existen reportes sobre las partes de *A. indica* como los frutos, raíces, corteza, semillas y hojas, pueden inhibir a los protozoarios ciliados y mejoran la permeabilidad celular del tracto gastrointestinal (Tipu *et al.*, 2006; Faniyi, 2016), por lo que puede usarse como estimulante digestivo con el fin de promover el crecimiento de los rumiantes, esto podría beneficiar a la producción fermentativa de tal manera que la energía que se pierde durante la metanogénesis se canalizaría para el crecimiento de los animales y en la degradación ruminal la proteína de la dieta que pasaba a ser nitrógeno amoniacal podría reducirse y la biohidrogenación completa de los ácidos grasos mejoraría, por tanto, el Neem podría utilizarse en la producción de rumiantes por su valor nutritivo y por sus efectos estimulantes del crecimiento (Tipu *et al.*, 2006; Jack *et al.*, 2020).

Se ha reportado que *A. indica* puede ser un alimento alternativo para rumiantes ya que a pesar de su sabor amargo se ha informado de la aceptación por parte de los ovinos (Alzohary, 2016), además las hojas de Neem se han empleado como fuente de proteína alternativa a las fuentes de alimentación convencionales (Paengkoum, 2010; Jack *et al.*, 2020).

Otro efecto que se le confiere a las hojas de Neem es su efecto antipirético, propiedad que se le confiere a la nimbidina y a nimbidin, la cual actúa disminuyendo la inflamación y puede interferir en la destrucción de las bacterias que causan úlceras, reduciendo el volumen de ácidos ya que previenen el agotamiento de los mastocitos y del moco, el efecto es provocado por el bloqueo de la secreción de ácido a través de la inhibición de H⁺-K⁺-ATPasa previene un daño oxidativo y apoptosis, , por otra parte *A. indica* tiene un potencial antibacteriano, en un estudio probaron la asociación entre antibióticos y las hojas de Neem contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Subaprina y Nagini, 2005; Cristo *et al.*, 2016), además Quelemes *et al.* (2015) reportaron que a medida que aumenta la concentración de Neem (de 250 a 1000 mg / ml) disminuye la capacidad de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina para formar grandes colonias, por otra parte, como antiparasitario con acción contra *Schistosoma mansoni*, el extracto provocó una mortalidad después de las 24 y 96 horas con una concentración de 300 y 200 mg / mL respectivamente del 100 %.

Las hojas de Neem a 2.5 g / kg de materia seca tienen efectos beneficiosos sobre el rendimiento del crecimiento y los parámetros hemato-bioquímicos en pollos de engorde y conejos ya que estudios demuestran que toleran hasta un 15 % de la dieta. (Ansari *et al.*, 2012; Mafuo *et al.*, 2019). La fruta de Neem también ha mostrado un efecto anticoccidial en aves de corral contra la salinomicina, un ionóforo que desarrolla resistencia por un uso prolongado y aumenta los costos de producción, la cual causa menor conversión alimenticia, crecimiento, menor calidad de la carne y una mayor mortalidad, el Neem a una dosis de 150 g / 50 kg de MS redujo el conteo de oocistos y redujo la mortalidad de los animales en comparación con el ionóforos cuya mortalidad fue de 2.63 % (Tipu *et al.*, 2002).

Otra característica de *A. indica* es su hepatoprotección, esta actividad protectora de las hojas puede deberse a su efecto antioxidante y a la normalización de la función de la membrana (Mohamed *et al.*, 2010). Se ha informado que el Neem contiene ácidos fenólicos los cuales son responsables de la variación en la actividad antioxidante de la planta, por lo cual se exhibe una actividad antioxidante inactivando los radicales libres de lípidos evitando la descomposición de hidroperóxidos (Jawad *et al.*, 2014; Ouerfelli *et al.*, 2019). Se ha documentado que el Neem disminuye la peroxidación lipídica debido al contenido de fenoles que actúan sobre la captación de radicales DPPH y su capacidad para donar hidrógeno, el DPPH es un radical libre estable y acepta un electrón o un radical de hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética estable, en general la corteza muestra una mayor actividad de eliminación de radicales libres a la concentración de 0.1 mg / mL (Ghimeray *et al.*, 2009), así mismo los extractos de hojas de *A. indica* al 70 % reducen significativamente la peroxidación lipídica inducida por Nmetil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina, al mejorar las actividades de los antioxidantes dependientes de glutatión y la superóxido dismutasas y catalasa (Subapriya *et al.*, 2005).

Las hojas de Neem contienen diferentes compuestos como quercetina-3-O-β-D-glucósido, Miricetina-3-O-rutinósido, Kaempferol-3-O-β-D-glucósido, Quercetina-3-O-glucosa y L-ramnosida, los cuales se posiblemente pueden ser responsables de la actividad lipidemica, se ha reportado que los niveles séricos de colesterol

disminuyen progresivamente cuando se aumentan los niveles de hojas de A. indica en la dieta, se ha observado una disminución en el nivel de colesterol en suero de pollos de engorde probablemente por una disminución general en la movilización de lípidos, debido a que las hojas tienen efectos inhibitorios indirectos sobre los niveles de HMG-CoA reductasa, una enzima clave en la biosíntesis de colesterol (Ogbuewu y Mbajiorgu, 2008).

2.6. Terminalia

El género Terminalia (Familia Combretaceae) comprende aproximadamente 200 especies de árboles con flores, están ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, con la mayor diversidad genética en el sureste asiático, este género recibe su nombre Terminalia debido a la aparición de las hojas en las puntas de los brotes, las especies van desde arbustos hasta grandes árboles caducifolios, son árboles de gran tamaño que alcanzan una hasta 75 metros, las flores son pequeñas de color blanco verdoso aparecen en espigas o en racimos, la fruta puede ser amarilla, roja oscura o negra que generalmente está angulada o alada, el fruto es comestible (Baliga *et al.*, 2012; Cock, 2015; Nigam *et al.*, 2020).

Las especies de Terminalia de la familia Combretaceae son plantas con propiedades nutricionales y terapéuticas, sus beneficios están relacionados con el nivel de fenoles como los flavonoides, ácidos fenólicos, glucósidos triterpénicos, galotaninos, elagitaninos y proantocianidinas, *T. bellerica* y *T. chebula* son componentes importantes de triphala, una formulación ayurvédica India que posee numerosas actividades farmacológicas incluyendo un efecto antioxidantes debido a el ácido gálico que puede combinarse directamente con los radicales libres y conducir a inactivarlos, otros efectos son antiinflamatorios, anticancerígenos, hepatoprotectores y antimicrobianos (Jadon *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 2020). También se ha demostrado que el contenido de polifenoles de estas plantas reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y mejoran la regeneración del hígado, los taninos forman un complejo con las proteínas y suprimen la población bacteriana proteolítica, lo que la resguarda de la degradación del rumen y, por lo tanto, mejora

la disponibilidad de proteínas para su utilización post-rumen (Lakhani *et al.*, 2019; Sobeh *et al.*, 2019).

2.6.1. *Terminalia bellirica*

Es uno de los ingredientes de la medicina ayurvédica de Triphala, conocida como Behera, es una planta de la familia *Combretaceae*, proveniente de la India, es un árbol caducifolio que puede llegar a medir de 10 a 20 metros de altura, la corteza es gris azulada, la madera es gris amarillento, las frutas contienen propiedades farmacológicas como antioxidante, analgésico, antipirético, antihelmíntico, hepatoprotector y antidiarreico (Kuriakose *et al.*, 2017; Dharmaratne *et al.*, 2018). Existen estudios donde se reporta que *Terminalia bellirica* contiene metabolitos secundarios como taninos, fenoles glucósidos, flavonoides, estilbenoides, cumarina, terpenoides alcaloides, flavonas (Gupta *et al.*, 2020) y otros específicos como: ácido elágico (3102 mg / g), ácido gálico (17 mg / g), quercetina (99 mg / g), elagitaninos como corilagin, ácido quebuálgico, ácido bellerico, galloylpunicalagin, lignanos entre otros glucosa, manitol, galactosa, fructosa (Bajpai *et al.*, 2005; Sobeh *et al.*, 2019).

Se han reportado diferentes beneficios al emplear *T. bellirica*, entre ellas un efecto antibacteriano generalmente en gram negativas, encontrando la zona de inhibición de *Streptococcus pyrogens* con 400 µg / mL de *T. bellirica*, para *Escherichia coli* es 16.3, 19.0 y 22.6 µg / mL, en *Pseudomonas aureus* es 12.2, 16.0 y 23.4 µg / mL, en los pirógenos de Streptococcus, la inhibición es 18.3, 21.3 y 24.0 µg / mL (Kumar y Khurana, 2018), una respuesta antioxidante a través de la activación transcripcional de Nrf2, PI3K / Akt y AMPK, los componentes de *T. bellirica* interactúan con Keap1 y disminuyen su afinidad por Nrf2, liberándolo para la translocación nuclear, aumentando los genes y proteínas antioxidantes, como la catalasa, NQO1, HO1 y GCLM, esto reduce el estrés oxidativo (Gupta *et al.*, 2020).

Además, se ha evaluado la eficacia de *T. bellirica* contra el daño hepático y renal, a una dosis de 200 mg / kg de ácido gálico se ha observado una normalización de enzimas como aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa sérica y fosfatasa alcalina sérica de ratas enfermas, esta respuesta se debe al contenido de

ácido gálico en la planta el cual puede proteger el hígado previniendo la peroxidación de lípidos, elimina los radicales superóxido e hidroxilo que están involucrados en la producción de radicales libres, lo que sugiere una unión de los compuestos galato a la membrana lipídica (Jadon *et al.*, 2007), en otro ensayo con ratas se comprueba las propiedades antioxidantes, a una dosis de Terminalia bellirica de 100 mg / kg se observó una reducción en los niveles de ALT, bilirrubina debido al alto contenido en fenoles totales (Sobeh *et al.*, 2019).

El ácido gálico contenido en *T. bellirica* tiene un efecto normoglucémico, se ha observado que en ratas diabéticas los niveles de glucosa plasmática se redujeron mediante la administración de una manera dependiente de la dosis, comparable a la reducción de las ratas tratadas con insulina, el mecanismo de acción del ácido gálico se debe a la regeneración de las células β dañadas, el resultado de la normalización de la glucosa por el ácido gálico podría deberse a la potenciación de la liberación de insulina de las células β existentes de los islotes de Langerhans, y como consecuencia se observó un mejor peso corporal, la proteína plasmática y la albúmina, lo que podría deberse a una mejora en la secreción de insulina y este control glucémico mejoró el perfil lipídico reduciendo los niveles de colesterol sérico, triglicéridos, colesterol LDL y aumentó el colesterol HDL (Latha y Daisy, 2011).

2.6.2. Terminalia Chebula

Es un árbol perteneciente a la familia Combretaceae, puede medir 15-25 metros de alto, su copa es redonda y ramas extendidas, hojas ovadas y elípticas, la corteza color marrón, flores crecen en espigas terminales de color blanco a amarillo con un fuerte olor que aparecen de mayo a junio, la fruta mide de 30 a 60 centímetros aparecen de julio a diciembre, de color verde cuando no está maduro y gris amarillento cuando está maduro y se logran recolectar en enero a abril (Bag *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2019).

Los componentes secundarios que se pueden encontrar en *T. chebula* incluyen taninos hidrosolubles (ácido gálico, ácido quebálgico, punicalagina, quebulanina, corilagina, ácido neoquebulínico, ácido elágico, ácido quebulínico, casuarinina, terchebulin), ácidos fenólicos con potencial antioxidante eliminando los radicales

libres y DPPH, contiene flavonoides, linanos, además de ácidos grasos como el linoleico, palmítico y oleico, glucósidos triterpenoides como las quebulosidas I y II, arjunina, arjunglucósido, ácido 2 α -hidroxursólico y ácido 2 α hidroximicromérico, se ha encontrado que las hojas de *T. chebula* contienen polifenoles como punicalina, punicalagina, terflavinas B, C y D (Pfundstein *et al.*, 2010; Bag *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2017). Se ha reportado el efecto de los taninos hidrolizables de *T. chebula* como hepatoprotección, efecto antiinflamatorio y antiulcerativo ya que reduce hasta un 38 % la acidificación estomacal (Upadhyay *et al.*, 2014), tiene un potencial antibacteriano, se ha observado que tiene un efecto contra *Helicobacter pylori* con una concentración mínima inhibitoria y una concentración bactericida mínima de 125 y 150 $\mu\text{g} / \text{mL}$, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* y *Klebsiella pneumoniae*; antiparasitaria, contra *Haemonchus contortus*, tiene un efecto beneficioso en la aceleración del proceso de curación en tejidos al aumentar la resistencia a la tracción de los tejidos en aproximadamente un 40 % y disminuir el período de epitelización (Li *et al.*, 2011; Bag *et al.*, 2013).

2.6.2.1. *Chebulic myrobalan*

Es fruto de *Terminalia chebula*, también se conoce como myrobalan, se usa comúnmente en la medicina tradicional asiática, se le atribuyen varias actividades biológicas como agente astringente, antitusivo, antidiarreico, esta fruta ha sido utilizada en extractos acuosos o alcohólicos en actividades anticancerígenas, antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras y la inhibición de la síntesis de óxido nítrico (Juang *et al.*, 2004). Entre sus múltiples atributos se ha observado su acción antibacteriana contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Shigella* (Li *et al.*, 2011). Existen reportes que indican que los frutos de *Terminalia chebula* contienen taninos hidrolizables 34 %, quercetina 182 mg / g, ácidos fenol carboxílico, ácido gálico 5429 mg / g, ácido elágico y ácido quimérico, gallotaninos, elagitaninos: punicalagina casuarinina, corilagina y terquebulina, entre otros compuestos como quebulanina, ácido neoquebulínico, ácido quebálgico y ácido quebulínico 25 mg / g), compuestos fenólicos como ácido elágico 245 mg / g), el cual se ha comprobado que puede

contribuir al efecto hepatoprotector de la fruta, además se puede encontrar un alto contenido de compuestos fenólicos, taninos hidrolizables (terflavina A, terquebulina, punicalagina), flavonoides y ácido ascórbico (Lu *et al.*, 2019; Nigam *et al.*, 2020). Entre otros beneficios de la fruta de *T. chebula* se describe un aumento el tiempo de vaciado gástrico en ratas en comparación con la metoclopramida, lo que sugiere que puede ser una estrategia natural útil a los fármacos procinéticos, esta acción parece estar equilibrada con un efecto protector sobre la mucosa gastrointestinal, con la mejora en el estado secretor de la glándula de Brunner involucrada en la protección contra la úlcera duodenal (Bag *et al.*, 2013).

En un estudio Jeong *et al.* (2019) evaluó la despolimerización de los polisacáridos de la pared celular mediada por radicales reactivos de oxígeno, debido a que este es un factor clave en el ablandamiento de la fruta durante la maduración, es el mecanismo químico de captación de radicales libres por los polisacáridos de la fruta, esto dado que generalmente los frutos se utilizan secos antes de que estén completamente maduros estos pueden contener polisacáridos intactos vulnerables a la degradación oxidativa durante el proceso de maduración lo que el autor sugiere que es altamente factible de que los polisacáridos pueden ser los ingredientes antioxidantes cruciales en la fruta *Terminalia chebula*.

El ácido quebulínico que se encuentra en la fruta de *T. chebula* tiene un efecto hepatoprotector, se ha observado que a dosis de 75 y 150 mg / kg podría prevenir el daño inducido por peróxido de hidrógeno terbutílicot-BHP y CCl₄ que se usa para simular el daño oxidativo en los hepatocitos y se asemeja a una enfermedad hepática en comparación del fármaco silimarina (20 mg / kg), se observó que bloquea la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), reduciendo los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) y mejorar la expresión de HO-1 y NQO1 enzimas desintoxicantes que juegan un papel importante durante la resistencia al estrés oxidativo a través de la vía de señalización MAPK / Nrf2 son fundamentales en la regulación de enzimas de desintoxicación y antioxidantes no enzimáticos, el ácido quebulinico protegió a los ratones de la lesión hepática inducida por CCl₄, reduciéndolos niveles de ALT, AST y MDA (malondialdehído), se pudo observar cambios histopatológicos mejorados y la activación de la vía de señalización Nrf2 /

HO-1. CA metabolizado a isómeros de ácido quebúlico con radical DPPH (Feng *et al.*, 2021).

Los extractos *Terminalia chebula* contienen taninos que podrían regular los niveles inmunológicos e histoquímicos, aumentando la cantidad de capilares recién formados en la fase inflamatoria, así como el porcentaje de contracción de la herida en las fases de formación de granulación y remodelación de cicatrices y así promover la cicatrización de heridas (Li *et al.*, 2011).

2.7. Empleo de plantas en los animales

Las plantas se han empleado como aditivos alimentarios con el fin de evaluar algunos parámetros productivos que para los productores son de suma importancia, entre los cuales se han medido la ganancia de peso, la tasa de conversión alimenticia, el porcentaje de mortalidad, el costo de producción entre otros (Jouany *et al.*, 2007).

Se ha reportado que las hojas de *A. indica* son una alternativa alimenticia durante el periodo de sequía ya que tiene alto valor proteico 20.52 % y a pesar del sabor amargo, se ha demostrado que es posible que los rumiantes se acostumbren al sabor con el tiempo mejorando la ganancia diaria de peso (Sujarwo *et al.*, 2016), se ha observado que las hojas de Neem han remplazado hasta el 30 % de la paja de mostaza como proteína cruda y se observó un incremento los niveles en la producción de ácidos grasos volátiles, indicando que las hojas de Neem suministraron los nutrientes necesarios para mejorar el crecimiento microbiano ruminal y la fermentación del alimento (Raghuvansi *et al.*, 2007). Las hojas de Neem al 12 % de MS pueden reemplazar hasta un 50 % de la harina de soya como proteína en las dietas de rumiantes sin efectos negativos sobre la ingesta, la ganancia diaria de peso y la digestibilidad de la fibra, en otro estudio también se pudo observar que la ingesta y la digestibilidad aparente de MS y de la proteína cruda fueron mayores en cabras suplementadas con 300 g de Neem y el peso corporal después del sacrificio (Paengkoum, 2010; Dida *et al.*, 2019).

Se ha observado que 40 g / kg MS de aceite de Neem adicionado a dietas de ovinos en finalización, disminuye las concentraciones de ácidos grasos volátiles 6.88 %,

las proporciones molares de acetato 11.3 %, ácidos grasos de cadena ramificada 25 % y la digestibilidad 10 %, mientras que la proporción de butirato fue mayor 50.8 %, estos resultados se deben al aceite de Neem contiene principalmente glicéridos, ácidos grasos libres y compuestos bioactivos nimbin, nimbidin y nimbinin, esto favorece a las bacterias productoras de butirato e inhibe a las bacterias productoras de acetato, lo que probablemente refleja una menor fermentación de la dieta relacionada con el contenido de compuestos antibacterianos en *A. indica* (Yang *et al.*, 2009).

Querfelli *et al.* (2019) evaluaron el efecto antioxidante de hojas de Neem sobre trozos de carne cruda, el efecto antioxidante de *A. indica* sobre la estabilidad oxidativa está asociada con su riqueza de compuestos fenólicos los cuales eliminan los hidroperóxidos, los resultados obtenidos mostraron que las hojas frescas de *A. indica* retardaron la oxidación de los lípidos de la carne refrigerada al tiempo que aumentaron su pH (5.40), *A. indica* también redujo la formación de metmioglobina 36.70 %, limitan la pérdida de color, y reducen el crecimiento bacteriano contra algunas bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*. De y Mukherjee (2009) evaluaron el efecto de *A. indica* como tratamiento sobre la mastitis en vacas, los resultados indicaron que el conteo de células somáticas, el conteo de bacterias, el porcentaje de neutrófilos de la leche disminuyó y se observó aumentó el porcentaje de linfocitos de la leche, lo que refleja que el Neem tiene una actividad antiinflamatoria y antimicrobiana.

Otra planta que tiene beneficios en rumiantes es *T. chebula*, entre algunas se ha incluido al 1.0 % de MS y se observó una mejor digestibilidad de MS en un 12.38 %, materia orgánica en 12 %, fibra detergente neutra 28 %, fibra detergente ácido 62.9 % y la celulosa 52.8 % en comparación con el control, la emisión de metano (L / kg de ingesta de MS digerida) estimada por la cámara de respiración de circuito abierto se redujo un 24 % y la pérdida de energía de metano como porcentaje de la ingesta de energía digestible 20 % esto indica que *T. chebula* mejora la digestibilidad de los nutrientes y tiene una actividad antimetanogénica (Patra *et al.*, 2011).

Existen estudios en donde se evalúa el potencial inhibidor y bactericida que tienen los extractos de taninos de las frutas de *T. chebula* contra la inhibición de *Staphylococcus aureus* valor de concentración mínima inhibitoria (CMI) 0.3125 mg / ml y valor de concentración mínima bactericida (CMB) 1.25 mg / mL y *Klebsiella Pneumonia* in vitro con un CMI 0.3125 mg / mL y valor de CMB 0.625 mg / mL, también se encontró que la calidad de cicatrización de la herida era mejor, en términos de formación de granulación y organización del colágeno después de la creación de la herida a las 24 horas después del tratamiento, la mayoría de las bacterias del grupo II se redujeron, secaron y deformaron, algunas bacterias se volvieron vesiculares o irregulares (Li *et al.*, 2011), además, en los frutos de *T. chebula* se ha observado un efecto hepatoprotector in vitro en los hepatocitos de ratas, el compuesto mostro una actividad captadora de radicales libres y una actividad antioxidante reductora de hierro gracias al contenido de ácido quebúlico (Lee *et al.*, 2006).

T. chebula contiene constituyentes como taninos hidrolizables, ácido carboxílico fenólico, además de ácido gálico, ácido elágico, ácido quebúlico y galotaninos, compuestos fenólicos los cuales le confieren el efecto antimicrobiano y antiinflamatorio, se ha informado que puede ser una alternativa natural a la terapia con antibióticos contra la mastitis subclínica bovina causada por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus megaterium*, a una concentración de 500 µg / mL fue tan eficaz como el tratamiento con amoxicilina, se ha reportado que cuanto mayor sea el recuento de células somáticas en la leche reducirá la calidad de la leche cruda asociado a una disminución de lactosa, α -lactoalbúmina y grasa en la leche debido a la reducción de la actividad sintética en el tejido mamario, una glándula mamaria sana tiene menos de 1×10^5 células / mL y cuando existe una infección bacteriana puede aumentar por encima de 1×10^6 células / mL (Kher *et al.*, 2018).

También se ha evaluado el efecto sinérgico que tienen los aditivos fitogénicos al suplementarlos en las dietas en dosis de Neem (20 g / 100 g), *Terminalia chebula* (10 g / 100 g) y *Terminalia bellerica* (10 g / 100 g), dando como resultado un efecto positivo en el perfil hematobioquímico y la inmunidad celular, ya que se observó un

aumento en las concentraciones de proteína total 29 %, albúmina 26.6 %, globulina 30 %, aspartato transaminasa 2.0 % y alanina transaminasa 11 %, mientras que el cortisol y la glucosa disminuyeron 25 y 11.6 % respectivamente (Laklani *et al.*, 2018).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ovinocultura es una actividad pecuaria que se presenta como una alternativa para incrementar el ingreso económico de las unidades de producción del país, aunque se han generado estrategias de alimentación estas no satisfacen las demandas alimenticias ya que las tendencias de consumo de la población solicitan que la producción agropecuaria genere productos libres de residuos químicos y sintéticos, además uno de los riesgos que se han observado es la presencia de residuos en los productos animales; dichos problemas se deben al uso inadecuado de antibióticos, que generan resistencia ante los patógenos causando efectos adversos para la producción animal, por este motivo se sugiere buscar alternativas naturales con propiedades fitobióticas, que se integren en la nutrición con el fin de promover la salud y el bienestar de los animales.

Las plantas a lo largo de los años han sido estudiadas y utilizadas para tratar o prevenir enfermedades gracias a sus compuestos que se producen de forma natural, de ahí que se han una alternativa para eficientizar el uso de los alimentos por parte del animal, mejorando la fermentación ruminal; esto se verá reflejado en la optimización, la cadena de producción y consumo, por consiguiente cárnicos de mejor calidad, además de beneficios económicos y sanitarios; a pesar de que existen reportes de efectos benéficos de *Azadirachta indica* *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan* su empleo se reduce en los rumiantes y comúnmente se utiliza como antiparasitario o antibacteriano, por otra parte existen sugerencias que las mezclas de plantas podrían potencializar la respuesta de las variables de interés, esto gracias sus metabolitos secundarios como taninos, saponinas, tirpenoides, flavonoides, fenoles, presentan un papel en el manejo de enfermedades mediante la modulación de varias vías, contienen una actividad antioxidante, afectan positivamente al microbioma ruminal y estimulan el sistema inmune. Debido a esto, se considera que el uso de plantas mejorara el comportamiento productivo, ruminal, el perfil hematoquímico contribuyendo con el bienestar animal y así la obtención de productos de alto valor bilógico para el consumo humano.

4. HIPOTESIS

La adición de productos herbales (*Azadirachta indica*, *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan*) y hojas de *Azadirachta indica*, mejorara las variables productivas, ruminales y metabolitos sanguíneos de ovinos en finalización.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los productos herbales (*Azadirachta indica*, *Terminalia bellirica* y *Chebulic mycrobalan*) y las hojas de *Azadirachta indica* sobre el comportamiento productivo y características ruminales de ovinos en finalización.

5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar el efecto en las variables productivas (PF, CMS, GDP, CA, GD, AMLD, Digestibilidad de la MS) de ovinos al adicionar un polihierbal (*Azadirachta indica*, *Terminalia bellica* y *Chebulic mycrobalan*) y hojas de *Azadirachta indica* a su dieta.
- Determinar los cambios en las variables de fermentación ruminal (pH, AGV totales, acético, propiónico y butírico) de ovinos alimentados con los productos herbales y hojas de *Azadirachta indica*.
- Evaluar los efectos de niveles crecientes de la mezcla polihierbal y de las hojas de *Azadirachta indica* en las concentraciones sanguíneas de algunos metabolitos como indicadores del estado metabólico y de salud de ovinos en finalización

6. MATERIAL Y METODOS

6.1. Lugar de estudio

La investigación se llevó a cabo bajo los lineamientos establecidos por el Comité Académico del Departamento de Ciencia Animal de Ética, Bioseguridad y Bienestar Animal, de acuerdo con las regulaciones establecidas por la Ley de Protección Animal del Estado de México, México.

Este ensayo consto de dos fases, la primera se realizó con animales en las instalaciones del área metabólica de ovinos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo y la segunda parte en el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación del Centro Universitario UAEM Amecameca de la Universidad Autónoma del Estado de México, Amecameca, Estado de México.

6.2. Animales y Dietas

En el experimento se emplearon 40 ovinos (Hampshire x Suffolk) con peso vivo inicial promedio de 23 ± 1.46 kg alojados en jaulas metabólicas, provistas de un comedero y un bebedero, al inicio del experimento se desparasitaron Clorantel®, 20 mg / kg PV vía oral, vacunados con Bobact® 8, 2.0 mL / animal, vía IM contra *Clostridium chauvoei*, *Clostridium septicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordelli*, *Clostridium perfringes*, *Pasterella multocida* tipo A, *Pasterella multocida* tipo D y *Pasterella haemolytica* y recibieron una aplicación intramuscular de vitamina ADE (Vigantol; 1.0 mL / animal).

Los animales se asignaron a uno de cuatro tratamientos (n = 10) en un diseño completamente al azar con niveles de inclusión de 0.0, y 2.0 % de Mebogrow® (*Terminalia bellirica*, *Azadirachta indica* y *Chebolic myrobalan*) y 0.5, 1.0 % de hojas de Neem (*Azadirachta indica*).

El producto herbal Mebogrow® empleado en este experimento se obtuvo de la empresa Nuproxa® México y el lote de hojas de Neem se adquirió en un mercado local, para incluir las hojas en la dieta pasaron por un proceso de deshidratación en

una estufa de aire forzado a temperatura de 80°C durante 24 h y posteriormente en un molino Thomas Wiley® posteriormente fueron molidas con una malla de 1 mm.

El periodo experimental tuvo una duración de 33 días, la dieta experimental que se encuentran en el Cuadro 1 se formuló siguiendo las recomendaciones del NRC (2007) para corderos en finalización 14 % de PC y 3.0 M cal / kg MS, buscando conseguir una ganancia de 250 g / d. La asignación de alimento se efectuó a las 09:00 h y el agua se ofreció ad libitum. Se realizó el análisis de la composición química del alimento ofrecido, determinando la materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas (C) y nitrógeno total (NT) (AOAC, 2005), fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA), empleando la metodología propuesta por Van Soest et al. (1991)

Cuadro 1. Dietas experimentales y composición química.

	Niveles de inclusión % MS			
	0.0	Poliherbal ^a 2.0	<i>Azadirachta indica</i> 0.5 1.0	
Sorgo grano	32.15	31.0	31.59	31.04
Maíz grano	21.0	21.0	21.0	21.0
Maíz rastrojo	15.46	13.58	15.18	14.9
Pasta de soya	11.75	11.89	11.81	11.86
Cloruro de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1
Melaza de caña	4.0	4.0	4.0	4.0
Alfalfa heno	14.54	15.44	14.82	15.1
Poliherbal ^a	0.0	2.0	0.0	0.0
<i>Azadirachta indica</i>	0.0	0.0	0.5	1.0
Minerales*	1.0	0.0	1.0	1.0
Composición química %				
Proteína cruda	14.91	14.91	14.98	15.04
Materia seca	90.84	91.11	90.26	89.52
Cenizas	7.44	6.90	7.43	6.55
Fibra detergente neutro	28.35	27.90	31.75	28.53
Fibra detergente ácido	8.19	8.19	6.79	7.97

^a*Azadirachta indica*, *Terminalia bellirica* y *Chebulic myrobalan* *Superbayphos®: P .10g, Ca .12g, Fe .05g, Mg .01 g, Cu .015 g, Zn .012 g, Mn 55 mg, Co 5 mg, I 2m g, Se 2 mg y vitamina A 50000 UI min

6.3. Comportamiento productivo

Cada ovino se pesó tras un ayuno de 12 horas al inicio del experimento (PI), al día 18 y en el día 33 para obtener el peso final (PF) con esto obtener la ganancia diaria de peso (GDP). Diariamente se registró la ingesta de materia seca (alimento ofrecido y rechazado) para obtener el consumo de materia seca (CMS), conversión alimenticia (CA), esta última se estimó con el consumo y la ganancia diaria de peso. El día 32 del experimento se midió la grasa dorsal (GD) y el área del músculo *Longissimus dorsi* (AML) topográficamente esto se realizó en el lado derecho dorsal, entre el espacio intercostal de la 12° y 13° costilla (Silva *et al.*, 2005) utilizando un ultrasonido de tiempo real SonoVet 600 marca MEDISON (Medison, Inc., Cypress, California, USA).

6.4. Colección de Muestras

6.4.1. Digestibilidad

Los días 25, 26 y 27 del experimento se obtuvieron muestras de heces de cada ovino para determinar la digestibilidad con marcador interno cenizas ácido insolubles (Van Keulen y Young, 1977).

6.4.2. Fermentación ruminal

El día 33 del experimento se tomaron 50 mL de líquido ruminal de cada ovino de forma preprandial para determinar el efecto del tratamiento sobre los parámetros de la fermentación del rumen, los cuales serán, pH empleando un potenciómetro (marca Orion Star, modelo A215), el líquido ruminal se acidificará con ácido metafosfórico (25 % p / v) en una relación 4:1 para posteriores análisis. Para la proporción de ácidos grasos volátiles (AGV) se empleará un cromatógrafo de gases Clarus 580 (Perkin Elmer) utilizando una columna capilar de 30 m x 0.25 mm x 0.25 um (Agilen Technologies, modelo HP-FFAP) y nitrógeno como gas acarreador (Erwin *et al.*, 1961).

6.4.3. Química sanguínea y Biometría hemática

El día 33, último día del periodo experimental se tomaron muestras sanguíneas de la vena yugular por ovino, una en un tubo vacutainer con anticoagulante EDTA (4 mL) para realizar la prueba Biometría Hemática por medio de un sistema automatizado KONTROLab BCVET2017, frotis directo y refractrometría, la segunda muestra se recolectara en un tubo vacutainer serum (6 mL) para realizar la prueba Química Sanguínea en suero: 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. por medio dela técnica fotometría automatizada.

6.5. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados con un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y diez repeticiones empleando el procedimiento GLM (SAS, 2012), empleando el peso inicial como covariable, además se realizaron contrastes ortogonales del testigo con el Mebogrow® y por otro lado para conocer el efecto del Neem (*Azadirachta indica*) se utilizaron polinomios ortogonales lineal y cuadrático (Steel *et al.*, 1997).

7. RESULTADOS

El resultado obtenido tras esta investigación fue el envío de un artículo científico bajo el título: "EFECTO DE ADITIVOS HERBALES EN LA RESPUESTA PRODUCTIVA, FERMENTACION RUMINAL Y ANALISIS SANGUINEOS DE OVINOS EN FINALIZACIÓN" en la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias

[RMCP] Envío recibido Yahoo/Buzón ★

 **MVZ. Arturo García Fraustro** <cienciaspecuarias@inifap.gob.mx>
Para: Pedro Abel Hernández García jue, 28 de oct. a las 8:06 p. m. ★

Pedro Abel Hernández García:

Hemos recibido y agradecemos el envío de su manuscrito: "EFECTO DE ADITIVOS HERBALES EN LA RESPUESTA PRODUCTIVA, FERMENTACION RUMINAL Y ANÁLISIS SANGUINEO DE OVINOS EN FINALIZACIÓN" a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. A través del sistema de gestión de revistas online usted podrá seguir su progreso del proceso editorial identificándose en el sitio web de la revista.

URL del manuscrito:
<https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/author/submission/6082>
Nombre de usuario/a: pedro_abel

Si tiene cualquier pregunta no dude en contactar con nosotros/as a cienciaspecuarias@inifap.gob.mx. Gracias por tener en cuenta nuestra revista para difundir su trabajo.

MVZ. Arturo García Fraustro
Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias
<https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>

8. CONCLUSIÓN

El uso de aditivos poliherbales (*Terminalia bellirica*, *Azadirachta indica* y *Chebulic myrobalan*) y de *Azadirachta indica*, no mostraron un cambio en las variables productivas ni ruminales, sin embargo, al incluir el polih herbal se observó un efecto benéfico en el metabolismo de proteínas. La inclusión de hojas de *Azadirachta indica* al 1.0% mejoró la digestibilidad de la materia seca, incrementa el conteo de neutrófilos favoreciendo así la inmunidad de ovinos en finalización.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almaraz I, González S S, Pinos-Rodríguez J M, Miranda L A. 2016. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on in sacco and in vitro degradation of diets and on growth performance of lambs. *Italian Journal of Animal Science*, 9, 6- 10.
- Ansari J, Khan S H, ul Haq A, Yousaf M. 2012. Effect of the levels of *Azadirachta indica* dried leaf meal as phytogetic feed additive on the growth performance and haemato-biochemical parameters in broiler chicks. *Journal of Applied Animal Research*, 40, 336-345.
- AOAC 2005 AOAC International. 2005. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International.
- Bag A, Bhattacharyya S K, Chattopadhyay R R. 2013. The development of *Terminalia chebula* Retz (Combretaceae) in clinical research. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,3, 244-252.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99, 191-203.
- Baliga M S, Meera S, Mathai B, Rai M P, Pawar V, Palatty P L. 2012. Scientific validation of the ethnomedicinal properties of the Ayurvedic drug Triphala: a review. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 18, 946-954.
- Bedford M R, Cowieson A J. 2012. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Animal Feed Science and Technology* 173, 76-85.
- Bidel L P, Coumans M, Baissac Y, Doumas P, Jay-Allemand C. 2010. Biological activity of phenolics in plant cells. *Recent Advances in Polyphenol Research*, 2, 163-205.
- Bodas R, Prieto N, García-González R, Andrés S, Giráldez F J, López S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176, 78-93.

- Camo J, Beltrán J A, Roncalés P. 2008. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*, 80, 1086-1091.
- Chahar M K, Kumar D S, Lokesh T, Manohara K P. 2012. In-vivo antioxidant and immunomodulatory activity of mesuol isolated from *Mesua ferrea* L. seed oil. *International immunopharmacology*, 13, 386-391.
- Chao S C, Young D G, Oberg C J. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of essential oil research*, 12, 639-649.
- Chaucheyras-Durand F, Durand H. 2009. Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes*, 1, 3-9.
- Choubey M, Pattanaik A K, Baliyan S, Dutta N, Jadhav S E, Sharma K. 2016. Dietary supplementation of a novel phytogetic feed additive: effects on nutrient metabolism, antioxidant status and immune response of goats. *Animal Production Science*, 56, 1612-1621.
- Cristo J S, Matías E F F, Figueredo F G, Santos J F S, Pereira N L F, Junior J G A S, Aquino P E A, Nogueira M N F, Ribero-Filho J, Cunha F A B, Costa M S, Campina F F, Tintino S R, Salgueiro C M, Coutinho H D M. 2016. HPLC profile and antibiotic-modifying activity of *Azadirachta indica* A. Juss, (Meliaceae). *Industrial Crops and Products*, 94, 903-908.
- Cock I E. 2015. The medicinal properties and phytochemistry of plants of the genus *Terminalia* (Combretaceae). *Inflammopharmacology*, 23, 203-229.
- Dharmaratne M P J, Manoraj A, Thevanesam V, Ekanayake A, Kumar N S, Liyanapathirana V, Abeyratne E, Bandara B R. 2018. *Terminalia bellirica* fruit extracts: in-vitro antibacterial activity against selected multidrug-resistant bacteria, radical scavenging activity and cytotoxicity study on BHK-21 cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 325.
- De U K, Mukherjee R. 2009. Expression of cytokines and respiratory burst activity of milk cells in response to *Azadirachta indica* during bovine mastitis. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 189-197.
- Dida M, Geleti D Yadav K. 2019. Effect of feeding different proportions of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and neem (*Azadirachta indica*) leaves on feed intake,

- digestibility, body weight gain and carcass characteristics of gumuz goats. *Veterinary and Animal Science*, 8, 100079.
- Ding S, Jiang H, Fang J. 2018. Regulation of immune function by polyphenols. *Journal of Immunology Research*, 2018 1264074.
- Durmic Z, Blache D. 2012. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Animal Feed Science and Technology*, 176, 150-162.
- Erwin E S; Marco G J, Emery E. 1961. Volatile fatty acids analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 44, 1768-1771.
- Faggio C, Sureda A, Morabito S, Sanches-Silva A, Mocan A, Nabavi S F, Nabavi S M. 2017. Flavonoids and platelet aggregation: a brief review. *European Journal of Pharmacology*, 807, 91-101.
- Faniyi T O, 2016. Effects of some herbs and spices on rumen modulation in West African Dwarf sheep. Ph.D. Thesis, Department of Animal Science, University of Ibadan, Nigeria. 232
- Feng X H, Xu H Y, Wang J Y, Duan S, Wang Y C, Ma C M 2021. In vivo hepatoprotective activity and the underlying mechanism of chebulinic acid from *Terminalia chebula* fruit. *Phytomedicine*, 83, 153479.
- Ferreira F N A, Ferreira W M, da Silva Inácio D F, Neta C S S, das Neves Mota K C, da Costa Júnior M B, da Rocha L F, Caicedo W O. 2019. In vitro digestion and fermentation characteristics of tropical ingredients, co-products and by-products with potential use in diets for rabbits. *Animal feed science and technology*, 252, 1-10.
- Frankic T, Voljc M, Salobir J, Rezar V. 2009. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta Agriculturae Slovenica*, 94 95-102.
- Frutos P, Hervás G, Giráldez F J, Mantecón A R. 2004. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2, 191-202.
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141, S15-S28.

- Ghimeray A K, Jin C W, Ghimire B K, Cho D H. 2009. Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta Indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. *African Journal of Biotechnology*, 8, 3084-3091.
- Guo W, Kong E, Meydani M. 2009. Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutrition and Cancer*, 61, 807-810.
- Gupta S, Abu-Ghannam N. 2011. Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 600-609.
- Gupta A, Kumar R, Bhattacharyya P, Bishayee A, and Pandey A K. 2020. *Terminalia bellirica* (Gaertn.) roxb. (Bahera) in health and disease: A systematic and comprehensive review. *Phytomedicine*, 77, 153278.
- Gutiérrez-del-Río I, Fernández J, Lombó F. 2018. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. *International journal of antimicrobial agents*, 52, 309-315.
- Hashemi S R, Davoodi H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*, 35, 169-180.
- Hashemzadeh-Cigari F, Khorvash M, Ghorbani G R, Kadivar M, Riasi A, Zebeli Q. 2014. Effects of supplementation with a phytobiotics-rich herbal mixture on performance, udder health, and metabolic status of Holstein cows with various levels of milk somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 97, 7487- 7497.
- Honikel K O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49, 447-457.
- Hossain M.A, Al-Toubi W A S, Weli A M, Al-Riyami Q A, Al-Sabahi J N. 2013. Identification and characterization of chemical compounds in different crude extracts from leaves of Omani neem. *Journal of Taibah University for Science*, 7, 181-188.

- Ishida K, Kishi Y, Oishi K, Hirooka H, Kumagai H. 2015. Effects of feeding polyphenol-rich winery wastes on digestibility, nitrogen utilization, ruminal fermentation, antioxidant status and oxidative stress in wethers. *Animal Science Journal*, 86, 260-269.
- Jack A A, Adewumi M K, Adegbeye M J, Ekanem D E, Salem A Z, Faniyi T O. 2020. Growth-promoting effect of water-washed neem (*Azadirachta indica* A. Juss) fruit inclusion in West African dwarf rams. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 3467-3474.
- Jadon A, Bhadauria M, Shukla S. 2007. Protective effect of *Terminalia bellerica* Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 214-218.
- Jawad Z, Younus M, Rehman M U, Munir R, Maqbool A, Shahzad W, Masood S, Muhammad K. 2014. Effect of *Azadirachta indica* on the hepato-renal functions in broilers chickens. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24, 1012-1018.
- Jouany J P, Morgavi D P. 2007. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, 1, 1443-1466.
- Juang L J, Sheu S J, Lin T C. 2004. Determination of hydrolyzable tannins in the fruit of *Terminalia chebula* Retz. by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Separation Science*, 27, 718-724.
- Kamra D N, Agarwal N, Chaudhary L C. 2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. In *International Congress Series*, 1293, 156-163.
- Kher M N, Sheth N R, Bhatt V D. 2019. In vitro antibacterial evaluation of *Terminalia chebula* as an alternative of antibiotics against bovine subclinical mastitis. *Animal Biotechnology*, 30, 151-158.
- Khalid M, Bilal M, HUANG D F. 2019. Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens—A review. *Journal of integrative Agriculture*, 18, 211-230
- Kim E T, Le Luo Guan S J L, Lee S M, Lee S S, Lee I D, Lee S K, Lee S S. 2015. Effects of flavonoid-rich plant extracts on in vitro ruminal methanogenesis,

- microbial populations and fermentation characteristics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28, 530.
- Kumar V S, Navaratnam V. 2013. Neem (*Azadirachta indica*): Prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, 505-514.
- Kumar N, Khurana S M. 2018. Phytochemistry and medicinal potential of the *Terminalia bellirica* Roxb (Bahera). *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR), Formerly Natural Product Radiance (NPR)*, 9, 97-107.
- Kuriakose J, Raisa H L, Vysakh A, Eldhose B, Latha M S. 2017. *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. fruit mitigates CCl₄ induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 93, 327-333.
- Lakhani N, Kamra D N, Lakhani P, Alhussien M N. 2019. Immune status and haemato-biochemical profile of buffalo calves supplemented with phytogenic feed additives rich in tannins, saponins and essential oils. *Tropical Animal Health and Production*, 51, 565-573.
- Latha R C R, Daisy P. 2011. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-biological Interactions*, 189, 112-118.
- Lee H S, Jung S H, Yun B S, Lee K W. 2007. Isolation of chebulic acid from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes. *Archives of Toxicology*, 81, 211-218.
- Li K, Diao Y, Zhang H, Wang S, Zhang Z, Yu B, Huang S, Yang H. 2011. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 1-9.
- Li K, Han X, Li R, Xu Z, Pan T, Liu J, Li B, Wang S, Diao Y, Liu X. 2019. Composition, Antivirulence Activity, and Active Property Distribution of the Fruit of *Terminalia chebula* Retz. *Journal of food science*, 84, 1721-1729.
- Lila Z A, Mohammed N, Kanda S, Kurihara M, Itabashi H. 2005. Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methane production, digestibility and

- blood metabolites in steers. *Asian-australasian Journal of Animal Sciences*, 18, 1746-1751.
- Lu Y, Yan H, Teng S, Yang X. 2019. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for preclinical pharmacokinetics and tissue distribution of hydrolyzable tannins chebulinic acid and chebulagic acid in rats. *Biomedical Chromatography*, 33, e4425.
- Mafouo S V, Kana J R, Nguepi Dongmo K. 2019. Effects of graded levels of *Azadirachta indica* seed oil on growth performance and biochemical profiles of broiler chickens. *Veterinary Medicine and Science*, 5, 442-450.
- McCullough H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clínica Chimica Acta* 17, 297-304.
- Mendel M, Chłopecka M, Dziekan N, Karlik W. 2017. Phytogetic feed additives as potential gut contractility modifiers—A review. *Animal Feed Science and Technology*, 230, 30-46.
- Mendoza-Martínez G D, Plata-Pérez F X, Ramírez-Mella M, Mejia-Delgadillo M A, Lee-Rangel H, Bárcena-Gama R. 2007. Evaluación de alimentos integrales para el engorde intensivo de ovinos. *Revista Científica*, 17, 66-72.
- Mohamed E T, Hisham A M, Marwa S M. 2010. Hepatoameliorative effect of *Azadirachta indica* leaves extract against mercuric chloride environmental pollution. *Journal of American Science* 6, 735751.
- Nigam M, Mishra A P, Adhikari-Devkota A, Dirar A I, Hassan M M, Adhikari A, Belwal T, Devkota H P. 2020. Fruits of *Terminalia chebula* Retz.: A review on traditional uses, bioactive chemical constituents and pharmacological activities. *Phytotherapy Research*, 34, 2518-2533.
- NRC - National Research Council. 2007. Nutrient requirements of small ruminants. National Academy of Science, Washington, DC. 362.
- Odhaib K J, Adeyemi K D, Ahmed M A, Jahromi M F, Jusoh S, Samsudin A A, Alimon A R, Yaakub H, Sazili A Q. 2018. Influence of *Nigella sativa* seeds, *Rosmarinus officinalis* leaves and their combination on growth performance, immune response and rumen metabolism in Dorper lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 50, 1011-1023.

- Ogbuewu I P, Mbajiorgu C A. 2019. Potential of leaf and seeds of tropical plants in chicken diets: effect on spermatozoa and egg production. *Tropical Animal Health and Production*, 51, 267-277.
- Olagaray K E, Bradford B J. 2019. Plant flavonoids to improve productivity of ruminants-A review. *Animal Feed Science and Technology*, 251, 21-36
- Ouerfelli M, Villasante J, Kaâb B B L, Almajano M P. 2019. Effect of Neem (*Azadirachta indica* L.) on lipid oxidation in raw chilled beef patties. *Antioxidants*, 8, 305.
- Paengkoum P. 2010. Effects of neem (*Azadirachta indica*) and leucaena (*Leucaena leucocephala*) fodders on digestibility, rumen fermentation and nitrogen balance of goats fed corn silage. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 883-886.
- Papuc C, Goran G V, Predescu C, Nicorescu V, Stefan G. 2017. Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1243-1268.
- Partida de la Peña J A, Braña D, Martínez L. 2009. Productive performance and carcass characteristics in Pelibuey sheep and crossbreds (Pelibuey Suffolk-Dorset). *Técnica Pecuaria en México*, 47, 313-322.
- Patra A K, Kamra D N, Agarwal N. 2006. Effect of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*, 128, 276-291.
- Patra A K, Saxena J. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71, 1198-1222.
- Patra A K, Saxena J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 24-37.
- Pérez H, Vilaboa A, Chalate M, Candelaria M, Díaz R, López O. 2011. Descriptive analysis of sheep production systems in the State of Veracruz, Mexico.

- Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, 21, 327-334.
- Plata F X P, Ricalde R V, Melgoza L M C, Lara A B, Aranda E I, Mendoza G D M. 2004. Efectos del tratamiento con monensina y cultivo de levadura (*Sacharomyces cerevisiae*) sobre el rendimiento de las ovejas. Revista Científica-Facultad De Ciencias Veterinarias, 14, 522-525.
- Pfundstein B, El Desouky S K, Hull W E, Haubner R, Erben G, Owen R W. 2010. Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytochemistry*, 71, 1132-1148.
- Polin-Raygoza L A, Muro-Reyes A, Diaz-Garcia L H. 2014. Ruminant fermentation modification and methanogenesis mitigation by essential oils from plants. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5, 25-47.
- Poulopoulou I, Hadjigeorgiou I. 2020. Evaluation of terpenes degradation rates by rumen fluid of adapted and non-adapted Animals. *Natural Products and Bioprospecting*, 11, 307-313.
- Quelemes P V, Perfeito M L, Guimarães M A, dos Santos R C, Lima D F, Nascimento C, Silva M P N, Soares M J, Ropke C D, de Moraes J. 2015. Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaf extract on resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation and *Schistosoma mansoni* worms. *Journal of ethnopharmacology*, 175, 287-294.
- Raghuvansi S K S, Prasad R, Mishra A S, Chaturvedi O H, Tripathi M K, Misra A K, Sarawat B L, Jakhmola R C 2007. Effect of inclusion of tree leaves in feed on nutrient utilization and rumen fermentation in sheep. *Bioresource technology*, 98, 511-517.
- Rao S B N, Jash S, Dineshkumar D, Krishnamoorthy P, Elangovan A V, Sivaram M, Parthipan M, Selvaraju S. 2016. Influence of detoxified neem seed cake on diet digestibility, body weight change, hormonal profiles, immune response and testicular gene expression in male sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 41-49.

- Rastogi S, Pandey M M, Rawat A K S. 2018. Phytochemical analysis, phenolic content and antioxidant properties of different parts of *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. a comparative study. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 17, 270-375.
- Roos T B, de Moraes C M, Sturbelle R T, Dummer L A, Fischer G, Leite F P L. 2018. Probiotics *Bacillus toyonensis* and *Saccharomyces boulardii* improve the vaccine immune response to Bovine herpesvirus type 5 in sheep. *Research in Veterinary Science*, 117, 260-265.
- SAS. 2012. Sistema de análisis estadístico, Guía del usuario. Estadístico. Versión 9.1a ed. SAS. Inst. Inc. Cary. NC Estados Unidos.
- Sharma S H, Thulasingam S, Nagarajan S. 2017. Terpenoids as anti-colon cancer agents-A comprehensive review on its mechanistic perspectives. *European Journal of Pharmacology*, 795, 169-178.
- Silva S R, Gomes M J, Días-da-Silva A, Gil L F, Azevedo J M T D. 2005. Estimation in vivo of the body and carcass chemical composition of growing lambs by real-time ultrasonography. *Journal of Animal Science*, 83, 350-357.
- Sobeh M, Mahmoud M F, Hasan R A, Abdelfattah M A O, Osman S, Rashid H, El-Shazly A M, Wink M. 2019. Chemical composition, antioxidant and hepatoprotective activities of methanol extracts from leaves of *Terminalia bellirica* and *Terminalia sericea* (Combretaceae). *PeerJ*, 7, e6322.
- Subapriya R, Nagini S. 2005. Medicinal properties of neem leaves: a review. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5, 149-156.
- Sujarwo W, Keim A P, Caneva G, Toniolo C, Nicoletti M. 2016. Ethnobotanical uses of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.; Meliaceae) leaves in Bali (Indonesia) and the Indian subcontinent in relation with historical background and phytochemical properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 189, 186-193.
- Tirado-González D N, Miranda-Romero L. A, Ruíz-Flores A, Medina-Cuéllar S E, Ramírez-Valverde R, Tirado-Estrada G. 2018. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. *Journal of Applied Animal Research*, 46, 771-783.

- Tipu M A, Pasha T N, Ali Z. 2002. Comparative efficacy of salinomycin sodium and neem fruit (*Azadirachta indica*). *International Journal of Poultry Science*, 1(4), 91-93.
- Tipu M A, Akhtar M S, Anjum M I, Raja M L (2006). New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*, 26, 144-148.
- Upadhyay A, Agrahari P, Singh D K. 2014. A review on the pharmacological aspects of *Terminalia chebula*. *International Journal of Pharmacology*, 10, 289-98.
- Van Keulen J Y B A, Young B A. 1977. Evaluation of acid-insoluble as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-287.
- Van Soest P V, Robertson J B, Lewis B A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Vázquez-Martínez I, Jaramillo-Villanueva J L, Bustamante-González A, Vargas-López S, Calderón-Sánchez F, Torres-Hernández G, Pittroff W. 2018. Structure and typology of sheep production units in central México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 15, 85-97.
- Velasquez-Munoz A, Manríquez D, Paudyal S, Han H, Callan R, Ryan E P, Pinedo P. 2019. Effect of prebiotic supplementation with stabilized rice bran in milk of pre-weaned organic Holstein calves. *BMC Veterinary Research*, 15, 1-9.
- Wallace R J 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 621-629.
- Wanapat M, Cherdthong A, Phesatcha K, Kang S. 2015. Dietary sources and their effects on animal production and environmental sustainability. *Animal Nutrition*, 1, 96-103.
- Wang J, Zhou H. 2007. Comparison of the effects of Chinese herbs, probiotics and prebiotics with those of antibiotics in diets on the performance of meat ducks. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16, 96-103.
- Windisch W, Schedle K, Pletzner C, Kroismayr A. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86, E140-E148.

Yang W Z, Laurain J, Ametaj B N. 2009. Neem oil modulates rumen fermentation properties in a continuous cultures system. *Animal Feed Science and Technology*, 149, 78-88.

Zhang H, Tsao R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-4