



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

**Extracto acuoso del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria*
(Jacq.) Willd.) en alimentación de corderos: Efecto sobre el valor
nutritivo de la dieta, comportamiento alimentario, antihelmíntico, y
respuesta productiva**

TESIS

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

**PRESENTA:
PEDRO ENRIQUE HERNÁNDEZ RUIZ**

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, mayo 2024



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

Extracto acuoso del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd) en alimentación de corderos: Efecto sobre el valor nutritivo de la dieta, comportamiento alimentario, antihelmíntico, y respuesta productiva

TESIS

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

PRESENTA:

PEDRO ENRIQUE HERNÁNDEZ RUIZ

COMITÉ DE TUTORES:

**DRA. MONA MOHAMED MOHAMED YASSEEN
ELGHANDOUR**

Directora de Tesis

DR. ABDEL FATTAH ZEIDAN MOHAMED SALEM

Co - director de Tesis

DR. MIGUEL ÁNGEL MELLADO BOSQUE

Tutor de Tesis

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, mayo 2024

RESUMEN

El uso de follaje de árboles como forraje para rumiantes está adquiriendo cada vez mayor importancia en muchas partes de los trópicos, incluyendo México, las arbustivas forrajeras son importantes en la estación seca cuando los pastos disminuyen la cantidad y calidad. Otro elemento importante de los árboles forrajeros son los taninos que pueden disminuir la degradabilidad de los forrajes. La adaptación a los taninos puede inducirse en cualquier especie herbívora en respuesta a la alimentación regular de alimentos taniníferos, o bien, de manera natural, los pequeños rumiantes consumen hojas y frutos de árboles ricos en metabolitos secundarios, los cuales recientemente se han utilizado como aditivos alimenticios para mejorar variables productivas y de salud en rumiantes, por ello, en la presente investigación, la cual se dividió en dos partes, usamos frutos del árbol de *Caesalpinia coriaria* (Cascalote). En el experimento 1 se midieron los efectos de la suplementación a largo plazo de *C. coriaria* extracto del fruto sobre la producción ruminal de metano, monóxido de carbono y sulfuro de hidrógeno en ovejas. En el experimento 2, se evaluó el potencial de los compuestos fenólicos y antioxidantes identificados y cuantificados de *C. coriaria* y sus impactos en el crecimiento y el estado de salud de los corderos. El primer experimento tuvo como objetivo evaluar el efecto a largo plazo de la administración oral de extracto acuoso del fruto de *C. coriaria* (Cascalote) a corderos sobre la producción ruminal de metano, monóxido de carbono y sulfuro de hidrógeno, y el perfil de fermentación in vitro. Se recolectó líquido ruminal (LR) de corderos a los que se les administró 0 (LR0), 30 (LR30) y 60 (LR 60) mL de extracto acuoso del fruto de *C. coriaria* durante 60 días por cordero, así como durante la incubación. Se agregaron 0, 0.6, 1.2 y 1.8 mL de extracto del fruto de *C. coriaria* a cada tipo de LR. Hubo un aumento dependiente de la dosis en la producción de gas con niveles crecientes de extracto de *C. coriaria*. Los corderos LR30 tuvieron la menor ($P = 0.013$) producción de metano ($\text{g CH}_4/\text{kg MS}$) a las 24 h, y los corderos LR30 con 1.8 mL/g MS tuvieron menor ($P = 0.031$) CH_4 ($\text{g CH}_4/\text{kg MS}$) a las 48 h. Además, las dietas fermentadas con LR0 produjeron los ácidos grasos de cadena corta (AGCC, mmol/g MS) y la energía metabolizable (EM, MJ/kg MS 24 h) más altos ($P = 0.001$), mientras que las dietas incubadas con LR30 produjeron los niveles más bajos. Sin la adición de extracto vegetal, la suplementación oral de 30 mL de extracto de fruta de *C. coriaria*/día/cordero fue óptima para la digestión, la EM y los AGCC. Por lo tanto, 60 mL/día/cordero que contenían 1.2–1.8 mL de extracto de fruto/g de MS es un medio factible para disminuir las emisiones de producción de EM, AGCC, CO, H_2S y CH_4 .

El segundo experimento tuvo como objetivo evaluar el impacto de los compuestos fenólicos, flavonoides y vitamínicos liposolubles identificados en el extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* sobre el crecimiento, la infestación por parásitos gastrointestinales, el comportamiento alimentario y las variables fisiológicas en corderos. Los frutos se extrajeron utilizando agua y tres dosis del extracto como sin extracto (CE0 mL/cordero/día), 30 mL de extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* (CE30 mL/cordero/día) o 60 mL de extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* (CE60 mL/cordero/día) se administraron por vía oral a 24 corderos mestizos en crecimiento que pesaban entre 18 y 20 kg durante 60 días. El análisis por HPLC reveló que el ácido ferúlico, elálgico, siríngico, la quercetina y la hesperidina fueron los compuestos predominantes presentes en altas concentraciones en los frutos de *C. coriaria*. Además, se detectaron compuestos vitamínicos solubles en agua como tiamina, ácido pantoténico y niacina en el extracto de fruta de *C. coriaria*. La administración dietética del extracto acuoso condujo a mejoras significativas ($P < 0.05$) en la ganancia diaria promedio, el consumo de alimento y agua. Los corderos EC30 pasaron más tiempo ($P < 0.03$) comiendo y menos tiempo rumiando. El extracto acuoso también mostró una reducción dosis dependiente ($P = 0.049$) en el recuento de huevos de parásitos fecales, con una disminución ($P = 0.0001$) observada cada día de aplicación del extracto. En particular, los corderos EC0 exhibieron la frecuencia respiratoria más alta ($P < 0.0001$), mientras que los EC30 tuvieron la frecuencia más baja. Hubo una fuerte correlación positiva entre la temperatura rectal y la temperatura abdominal. Los compuestos fenólicos y antioxidantes en el extracto acuoso de *C. coriaria* (60 mL) provocaron una mayor productividad, actividad antiparasitaria y alivio de la temperatura corporal. Por lo tanto, los ovinocultores que no tienen acceso a productos sintéticos pueden usar este extracto del fruto de Cascalote para reducir los parásitos gastrointestinales, ayudar a promover el crecimiento y reducir los residuos de compuestos químicos en los productos animales. Es necesario realizar más estudios sobre los componentes individuales de los frutos de *C. coriaria* para determinar su efecto sobre la temperatura/fisiología corporal y saber si los efectos son individuales o sinérgicos.

Palabras clave: Antioxidante; Fenólico; Flavonoide; *Caesalpinia coriaria*; crecimiento; Corderos.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIA.....	II
RESUMEN.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2. El fruto de <i>Caesalpinia coriaria</i> como fuente de taninos.....	5
3. Impacto de los metabolitos secundarios de las plantas en la digestión o utilización metabólica de las proteínas.....	6
1.1. Inhibidores de la amilasa.....	8
a. Inhibidores de proteasas	6
b. Lectinas (hemaglutininas).....	8
c. Factores anti-nutricionales.....	9
d. Taninos.....	10
4.1 Aminoácidos proteócicos.....	14
4.1.1. Mimosina.....	14
4.1.2. Antivitaminas.....	14
5. Varios ejemplos (Cianógenos, saponinas, nitratos y alcaloides).....	15
5.1 Cianógenos	15
5.2. Saponinas	17
5.3 Nitratos	19
5.4. Alcaloides.....	20
6. Efectos benefisiosos de los metabolitos secundarios.....	32
7. Metabolitos secundarios vegetales y emisión ruminal de gases de efecto invernadero.....	33

8. Manipulación dietética.....	37
8.1. Impacto de los metabolitos de las plantas y de árboles.....	38
8.1.1. Aceites esenciales.....	54
8.2. Uso de arbustivas forrajeras en la nutrición de rumiantes.....	68
8.3. Avances en la nutrición de rumiantes con el uso de aditivos vegetales.....	69
8.4. Fisiología digestiva del rumiante.....	69
8.5. procesos fermentativos en rumiantes.....	70
III. JUSTIFICACIÓN.....	73
IV. HIPÓTESIS.....	74
V. OBJETIVOS.....	75
5.1. General.....	75
5.2. Específicos.....	76
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	77
6.1. Experimento 1. Evaluación <i>in vitro</i>	77
6.1.1. Recolección del fruto de Cascalote.....	77
6.1.2. Preparación del extracto acuoso.....	77
6.1.3. Líquido ruminal.....	77
6.1.4. Incubaciones <i>In vitro</i>	77
6.1.5. Sustrato de la materia degradada.....	77
6.1.6. Análisis químico dieta.....	78
6.1.7. Determinación del contenido de fenoles totales y taninos condensados.....	78
7. Experimento 2.....	77
7.1. Materiales y métodos.....	77
7.2. Vitaminas.....	78
7.3. Evaluación biológica y fisiológica del extracto acuoso.....	79
7.4. Variables climáticas.....	80
7.5. Variables fisiológicas y temperatura de la piel.....	80
VII. RESULTADOS.....	84
7.1. Effects of long-term supplementation of <i>Caesalpinia coriaria</i> fruits extract on ruminal methane, carbon monoxide, and hydrogen sulfide production in sheep.....	84

7.2. Exploring the potential of phenolic and antioxidant compounds identified and quantified in <i>Caesalpinia coriaria</i> fruits with their impacts of lambs performance and healt	99
VIII. DISCUSIÓN GENERAL.....	122
IX. CONCLUSIONES.....	128
X. REFERENCIAS.....	129

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de los principales metabolitos	3
Cuadro 2. Efectos deletéreos y beneficios de algunos anti- nutrientes sobre el ganado.....	22
Cuadro 3. Efecto de la inclusión de follaje de árboles y extractos vegetales sobre la mitigación de la producción de gases de efecto invernadero.....	40
Cuadro 4. Composición de los principales aceites esenciales derivados de las plantas.....	56
Cuadro 5. Aceites esenciales derivados de las plantas y su impacto en las emisiones de gases de efecto invernadero del ganado.....	64
Cuadro 6. Aceites esenciales de plantas y su impacto en la adaptación microbiana ruminal.....	67
Figura 1. Varios suplementos alimenticios para reducir la emisión de gases de efecto invernadero de los animales de granja.....	38

INTRODUCCIÓN

Hasta hace poco, los árboles como recurso alimenticio habían sido ignorados por científicos debido al conocimiento inadecuado de su uso como forraje y a la carencia de iniciativa para desarrollar sistemas alimenticios más innovadores. Actualmente, los sistemas de producción agropecuarios han retomado como objetivo alcanzar una comunidad estable, con varios estratos de plantas productoras de follaje y/o frutos con valor nutritivo complementario a los monocultivos (Cayetano, 2014). Un árbol leguminoso *Caesalpinia coariaria* de las regiones tropicales de México, contiene metabolitos secundarios como taninos, ácido gálico y flavonoides. En años recientes se ha utilizado en distintas investigaciones relacionadas con rumiantes, utilizando su follaje y frutos (Campos–Pérez *et al.*, 2021).

Los extractos de árboles forrajeros tienen promueven el crecimiento y rendimiento de los rumiantes, así como efectos benéficos en la digestibilidad de los nutrientes, fermentación ruminal, efectos antihelmínticos, así como la mitigación de gases de efecto invernadero (Salem *et al.*, 2021). El efecto de los taninos en la digestión de los rumiantes está asociado con la cantidad de taninos consumidos y su composición química (Campos–Pérez *et al.*, 2021); el uso de los taninos en la nutrición de los animales tiene ventaja ya que tienen un efecto como antioxidantes en la carne de bovinos, contribuyen a mejorar el perfil de los ácidos grasos. Este efecto es de mucha utilidad para la industria cárnica ya que pueden mejorar el tiempo de anaquel de la carne (Manuel–Pablo *et al.*, 2018).

La manipulación de la fermentación ruminal tiene como objetivos principales aumentar la formación de ácido propiónico, disminución de la formación de metano (responsable de la pérdida de 2% al 12% de la energía de los alimentos) y reducir la proteólisis y desaminación de proteínas de la dieta en el rumen. Algunos aditivos pueden alcanzar algunos de estos efectos, y el aumento de la eficiencia productiva (Irala, 2011).

La alimentación de los rumiantes depende de la producción de biomasa a partir de los pastos. Sin embargo, las gramíneas tropicales no contienen la suficiente proteína cruda que induzca ganancias de peso rápidas y consistentes en el transcurso del año (Ku-Vera *et al.*, 2014).

Recientemente el uso de extractos de arbustivas y árboles forrajeros ha significado un avance en la mejora de la dieta de los rumiantes, desde la calidad de la carne, hasta la disminución de las poblaciones de parásitos que afectan la producción. Hoy en día se busca conocer los factores benéficos de estas plantas para un mejor aprovechamiento de los nutrientes, y por ende. una mejora en la producción animal.

2.REVISIÓN DE LITERATURA

1. Metabolitos secundarios de las plantas

Los metabolitos secundarios son sustancias químicas que, por sí mismas o por sus productos metabólicos, interfieren en la absorción y utilización de los alimentos y afectan a la productividad y la salud de los animales. Los metabolitos secundarios también se denominan antinutrientes, sustancias secundarias o metabolitos secundarios de las plantas. Se han identificado varios tipos de metabolitos secundarios con toxicidad potencial en los alimentos para el ganado (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los principales metabolitos secundarios presentes en los forrajes utilizados en la alimentación del ganado¹

Metabolitos secundarios	Fuente de nutrientes	Medios de alivio
<i>Interacción con la nutrición proteica</i>		
Inhibidores de la enzima	Soya, torta de aceite de girasol, harina de colza, harina de semillas de altramuz, sésamo, harina de semillas de chicharos, harina de semilla de jatrofa, Colza, torta de aceite de mostaza	Calor, autoclave, ebullición, remojo
Lectinas (Heamagglutinins)	Soya, harina de semillas de chicharos, harina de grano de jatrofa	Calor, autoclave

Saponinas	Chicharos, harina de grano de jatrofa, torta de aceite de girasol, harina de semilla de altramuz, harina de semilla de Chícharo	Remojar,
Taninos	Sorgo, aceite de mostaza Torta, harina de grano de jatrofa, harina de semilla de guisante, Colza, torta de aceite de mostaza	Remojo, germinación seguida de descascarillado, modificación genética
Mimosina	<i>Leucaena leucocephala</i>	Tratamientos térmicos y químicos, suplementación con aminoácidos o con iones metálicos
<i>Interacción con la disponibilidad de minerales</i>		
Ácido fítico	Soya, harina de semillas de chicharos, harina de semilla de algodón, harina de grano de jatrofa, harina de sésamo, Colza, torta de aceite de mostaza	Suplementación, uso de fitasa, tostado, remojo, autoclave, fermentación, germinación, modificación genética

Ácido oxálico	Proteínas de las hojas	Tratamiento térmico, Ebullición
Gosipol	harina de algodón	Modificación genética, fermentación, uso de sales de hierro
<i>Interacción con la disponibilidad de vitaminas</i>		
Cianógenos	Yuca, sorgo, harina de semillas de chicharos	Tratamiento térmico, ebullición, cocción a fuego lento
Alcaloides	Harina de semillas de altramuz	Tratamiento térmico en remojo
Antivitaminas	Harina de algodón, harina de soya, harina de semillas de chícharo	tratamiento térmico

2. El fruto de *Caesalpinia coriaria* como fuente de taninos

Los taninos condensados pueden utilizarse como aditivos para mitigar la emisión de gases de efecto invernadero y mejorar la producción ganadera. Estos taninos, en particular los taninos condensados, se distribuyen comúnmente en forrajes y arbustos nutricionalmente importantes, consumidos por los rumiantes. La eficacia de los taninos condensados depende de sus fuentes de origen (Huang et al., 2018). Además, los taninos condensados modifican la fermentación ruminal inhibiendo la producción de amoníaco y metano, en parte a través de su capacidad para complejizar la proteína y la fibra de la dieta. El efecto de los taninos en la digestión

de los rumiantes está asociado a la cantidad de taninos consumido y a su composición química (Patra y Saxena, 2011). A pesar del impacto de los taninos condensados, su alto nivel puede afectar la ingesta de materia seca, la digestión de nutrientes, la utilización de proteínas, la reducción de la actividad microbiana del rumen y la inhibición de las actividades de las enzimas digestivas endógenas (Huang et al., 2018). Una de estas plantas con taninos condensados es *C. coriaria*, una leguminosa arbórea del trópico de México, y contiene diversos metabolitos secundarios como taninos, ácido gálico y flavonoides (Sánchez-Carranza et al., 20147). Además, el fruto de *Caesalpinia coriaria* podría servir como alimento alternativo en la producción caprina sin afectar negativamente las variables de salud y rendimiento (Manuel-Pablo et al., 2020) y tiene propiedades ovicidas y larvicidas de helmintos (Martinez et al., 2020) y antioxidantes (Lokeswari y Sujatha, 2011). El impacto en la emisión de gases de efecto invernadero aún no se ha establecido, sin embargo, el estudio de Manuel-Pablo et al. (2020) dejó entrever el potencial de *C. coriaria* sobre el metano, donde su adición en la dieta de cabras redujo la concentración de protozoarios en el fluido ruminal. Así, debido a la relación de intercambio de hidrógeno entre protozoarios y metanógenos, *C. coriaria* muestra que tiene potencial para reducir la emisión de metano. Por lo tanto, es necesario investigar para seleccionar y evaluar las fuentes de taninos y establecer las concentraciones óptimas en las dietas de rumiantes.

3. Impacto de los metabolitos secundarios de las plantas en la digestión o utilización metabólica de las proteínas

3.1. Inhibidores enzimáticos

a. Inhibidores de proteasas

Las proteinasas son enzimas que tienen diversos efectos en la mejora de las propiedades funcionales y nutricionales de diferentes moléculas proteicas (Samtiya et al., 2020). Los inhibidores de proteasas son inhibidores naturales de las plantas

y se han convertido en un importante tema de investigación debido a su acción proteolítica (reduce la actividad enzimática mediante interacciones proteína-proteína), respuesta inflamatoria, capacidad de coagular la sangre y numerosas vías de procesamiento hormonal (Gomes et al., 2011). Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Por ejemplo, los IP existen en las semillas de la mayoría de los cultivos de leguminosas, y su presencia impide la utilización de las semillas como alimento para el ganado, lo que puede dar lugar a una menor biodisponibilidad de minerales, así como a una digestión y absorción de nutrientes reducida (Yasmin et al., 2008). En comparación con las leguminosas, los cereales contienen muchos menos de estos inhibidores digestivos, en particular los que actúan contra las proteasas y las amilasas (Nikmaram et al., 2017). Los inhibidores de proteasas se concentran en la porción externa de los cotiledones de los cereales, que son las zonas que contienen más metabolitos secundarios en las plantas, y pueden inhibir la actividad de las enzimas proteolíticas secretadas en el sistema digestivo de los animales (Nørgaard et al., 2019) bloqueando el sitio activo de las enzimas a través de un modo catalítico. Los N- y C-termini y los inhibidores de proteasas expuestos se consideran a menudo características estructurales importantes para inhibir la actividad enzimática (Otlewski et al., 2005). Se unen a las proteasas, que resisten la digestión en el intestino delgado, asegurando así su eliminación a través de la excreción. Debido a su naturaleza proteico particular, los inhibidores de la proteasa pueden ser fácilmente desnaturalizados por tratamiento térmico, aunque alguna actividad residual puede permanecer en los productos producidos comercialmente. La actividad antinutriente de los inhibidores de proteasas está relacionada con la supresión del crecimiento y la hipertrofia pancreática (Chunmei et al., 2010). Hay dos tipos de inhibidores de proteasas, el inhibidor de Kunitz (inhibe sólo la tripsina) y el inhibidor de Bowman-Burk (inhibe la tripsina y la quimotripsina) (Ramteke et al., 2019), que se encuentran comúnmente en la soya y no pueden ser fácilmente inactivados por tratamiento térmico debido a

la presencia de puentes disulfuro (Van Der Ven et al., 2005). El inhibidor de tripsina de la soya interfiere con la disponibilidad de metionina de la soya cruda y forma complejos no digeribles con la proteína alimentaria en el tracto gastrointestinal (Ramteke et al., 2019). Estos complejos no son digeribles incluso en presencia de grandes cantidades de enzimas digestivas (Thakur et al., 2019). Los pollitos que se alimentan de soya cruda desarrollan hipertrofia pancreática, pero esto no se observa en animales grandes como cerdos y terneros (Ramteke et al., 2019). La presencia de inhibidores de la tripsina en la dieta crea una condición irreversible conocida como complejo inhibidor de la enzima-tripsina, que conduce a una reducción de la tripsina en el intestino y una disminución de la digestión de proteínas, ralentizando el crecimiento animal. En los piensos de origen vegetal se encuentran varios inhibidores enzimáticos, pero los que afectan a la actividad de la tripsina y la α -amilasa son los dos tipos principales que se encuentran en todos los forrajes a base de cereales y leguminosas. Los factores que controlan la destrucción de los inhibidores de la proteasa son el tratamiento térmico, la duración del calentamiento, el tamaño de las partículas y el nivel de humedad (Tabla 2).

b. Inhibidores de la amilasa

La α -amilasa regula la descomposición de los carbohidratos, como la de los polisacáridos en oligosacáridos. Los inhibidores de la amilasa se conocen como bloqueantes del almidón porque contienen sustancias que impiden que el organismo absorba los almidones de la dieta. Por lo tanto, los inhibidores de la α -amilasa aumentan el tiempo de absorción de los carbohidratos al retrasar su digestión, disminuyendo así la tasa de absorción de glucosa y afectando al nivel normal de glucosa plasmática posprandial (Bhutkar y Bhise, 2012). Estos inhibidores son termolábiles y se ha comprobado que son activos en un intervalo de pH de 4-5-9.5. Los inhibidores de la amilasa no inhiben la amilasa bacteriana, fúngica o endógena, pero pueden inhibir la amilasa pancreática bovina.

La inestabilidad de este inhibidor en el tracto gastrointestinal provoca una reducción de la respuesta a la insulina y un aumento de la producción calórica de los alimentos cuando el inhibidor se utiliza en comprimidos bloqueadores del almidón (Tabla 2).

c. Lectinas (hemaglutininas)

Las lectinas son proteínas ligadas a azúcares que se unen fácilmente a los glóbulos rojos para causar aglutinación y se encuentran en la mayoría de las plantas, especialmente en semillas como los cereales y las judías, tubérculos como las patatas y carne cruda (Hamid et al., 2013). Los cereales y las leguminosas suelen contener lectinas, que son glicoproteínas. Se ha determinado la actividad de las lectinas en más de 800 variedades de leguminosas; entre el 2 y el 10% del total de proteínas de semillas de leguminosas son lectinas en la soya y la ricina (ricino), esta última tóxica y causante de graves cambios inflamatorios en el intestino, el riñón, la glándula tiroides, etc. (Ramteke et al., 2019). Además, las funciones de transporte e hidrolíticas de las células intestinales pueden verse alteradas por el consumo de alimentos que contienen lectinas (Krupa, 2008). Las lectinas perjudican la absorción de nutrientes al unirse directamente a la mucosa intestinal, interactuar con los enterocitos y provocar graves daños intestinales, lo que altera la digestión, causa deficiencias de nutrientes y lesiones epiteliales dentro del intestino, y permite que las bacterias entren en contacto con el torrente sanguíneo (Muramoto, 2017). En un estudio de Bardocz et al. (1995), el epitelio presentaba un aumento de la densidad de las células caliciformes y una marcada disminución o ausencia de vacuolas de absorción; las microvellosidades de las células intestinales estaban acortadas con un aumento de la formación de vesículas microviliares y del número de células de la cripta intestinal. El aumento de la densidad de las células caliciformes puede haberse debido a la producción de moco hipertrófico en el intestino cuando éste se irritaba por las lectinas, impidiendo la absorción de los productos finales de la digestión en el intestino delgado. Las lectinas también pueden haber resistido la

digestión a través del jugo pancreático (Ramteke et al., 2019). Las lectinas de la soya, conocidas como aglutininas de soya, perjudican el crecimiento de los animales, provocan el agrandamiento del intestino delgado, dañan el epitelio del intestino delgado y estimulan la hipertrofia y la hiperplasia del páncreas (Grant 1991). Las lectinas también se unen a los componentes glicoproteicos de los eritrocitos, provocando la aglutinación celular. Las lectinas tienen algunas propiedades químicas y biológicas interesantes, como su capacidad para interactuar con grupos sanguíneos específicos, realizar diversas funciones de división mitótica, destruir células cancerosas y tener efectos tóxicos en algunos animales. Dado que se unen a varios grupos de azúcares, las lectinas que se unen a la pared intestinal pueden presentar variaciones en función del tipo de azúcar. Las lectinas alimentarias son importantes porque muchas de ellas son resistentes a la digestión y no se descomponen en el intestino. Aunque las lectinas son proteínas, son parcialmente resistentes a la degradación proteolítica en el intestino. Las lectinas de la soya pueden unirse a las superficies del borde en cepillo, sobre todo en la parte distal del intestino delgado (Dublecz, 2011). Las lectinas se unen selectivamente a los carbohidratos y, lo que es más importante, a los restos de carbohidratos de las glicoproteínas presentes en la superficie de la mayoría de las células animales. Las lectinas actúan como antígenos proteicos que se unen simultáneamente a glicoproteínas superficiales o glicolípidos de los glóbulos rojos y a factores inmunitarios, provocando hemaglutinación y anemia. Están presentes en pequeñas cantidades en el 30% de los alimentos y en mayor cantidad en las dietas integrales. La hemaglutinación de los glóbulos rojos se utiliza habitualmente para medir la actividad de las lectinas (Fereidoon, 2014). El consumo de piensos que contienen lectinas puede provocar una pérdida endógena de nitrógeno y una menor utilización de las proteínas. Las proteínas y los carbohidratos no digeridos ni absorbidos en el intestino delgado llegan al colon, donde son fermentados por la flora bacteriana en ácidos grasos de cadena corta y gases. Éstos pueden, a su vez,

contribuir a algunos síntomas digestivos relacionados con la ingesta de judías crudas o lectinas purificadas. La alteración de la mucosa gastrointestinal causada por las lectinas puede permitir que las bacterias y sus endotoxinas entren en el torrente sanguíneo y causen toxicidad. Las lectinas también pueden absorberse directamente y causar efectos sistémicos como el aumento del catabolismo proteico, la descomposición de las grasas y el glucógeno almacenados, y alteraciones del metabolismo mineral (Tabla 2).

d. Taninos

Los taninos son polifenoles vegetales astringentes y amargos que tienen pesos moleculares superiores a 500 Da. Una de las propiedades de estos compuestos es su capacidad para precipitar proteínas y otros compuestos orgánicos diversos, como aminoácidos y alcaloides. Los taninos son compuestos secundarios que se encuentran en las hojas, frutos y corteza de las plantas (Timotheo y Lauer, 2018). También se encuentran en cereales como el sorgo que contiene hasta un 5% de taninos condensados y cebada (Morzelle et al., 2019), cultivos alimentarios y leguminosas como las habas, haboncillos, harina de semillas de girasol y colza, en el follaje de muchos árboles y arbustos, y en muchas semillas y subproductos agroindustriales (Dube et al., 2001). Los taninos suelen afectar a la digestión de las proteínas mediante la formación de complejos taninos-proteína reversibles y no reversibles entre el grupo hidroxilo de los taninos y el grupo carbonilo de las proteínas, lo que provoca una reducción de los aminoácidos esenciales (Raes et al., 2014). En la naturaleza, existen dos tipos de taninos: hidrolizables (por ejemplo, galotaninos y elagitaninos) y condensados (por ejemplo, proantocianidinas) (Smitha Patel et al., 2013). Los dos tipos difieren en su peso molecular, estructura y efectos nutricionales y tóxicos sobre los animales herbívoros, especialmente los rumiantes que ingieren taninos.

Los taninos condensados, el tipo más común de taninos presentes en leguminosas,

semillas, árboles y tallos, están ampliamente distribuidos en especies de leguminosas, varias especies de acacias, semillas y otras especies vegetales. Los taninos condensados contiene varias estructuras químicas, como unidades flavonoides (flavan-3-ol) unidas por enlaces carbono-carbono, que influyen en sus propiedades físicas y biológicas. La complejidad de los taninos condensados depende de las unidades de flavonoides que varían entre los componentes y dentro de los sitios para formar enlaces interflavanos. Los taninos hidrolizables suelen encontrarse en concentraciones más bajas en las plantas que los taninos condensados y se dividen a su vez en taragallotánicos (ácido gálico y quínico) y cafetaninos (ácido cafeico y quínico). Los taninos hidrolizables son fácilmente hidrolizados durante el proceso de digestión por enzimas taninasas que realizan la hidrólisis de enlaces éster. Pueden formar compuestos como el pirogalol, tóxico para los rumiantes. Los compuestos tóxicos procedentes de más de un 20% de taninos hidrolizables en la dieta pueden causar daños renales, necrosis tubular proximal, necrosis hepática, lesiones relacionadas con gastroenteritis hemorrágica y una elevada mortalidad en ovinos y bovinos (Reed et al., 1990). El ganado vacuno y ovino es sensible a estos taninos, mientras que el caprino es resistente (Bhattarai et al., 2016; Smeriglio et al., 2017). Los taninos se acumulan principalmente en la sección del salvado de las leguminosas; cuando se ingieren, forman complejos que contienen proteínas que alteran varias enzimas digestivas y reducen la digestión de las proteínas (Joye, 2019). En no rumiantes, los taninos hidrolizables pueden reducir las tasas de crecimiento, la utilización de proteínas, causar daños en la mucosa del tracto digestivo y aumentar la excreción de proteínas y aminoácidos (Hassanpour et al., 2011). Los taninos condensados tienen un fuerte efecto en la reducción de la digestibilidad de los taninos hidrolizables, mientras que los taninos hidrolizables causan diversas manifestaciones tóxicas debido al hidrólisis en el rumen (Akande et al., 2010). Los taninos son el tipo más común de metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas.

Sus efectos antinutricionales dependen de su estructura química y dosificación. Pueden inhibir las actividades de la tripsina, la quimotripsina, la amilasa y la lipasa, reducir la calidad de las proteínas alimentarias e interferir en la absorción del hierro ingerido. Los taninos también forman complejos insolubles con las proteínas, lo que puede explicar los efectos antinutricionales de los alimentos que contienen taninos (Gemedede y Ratta, 2014). Los taninos interfieren en la digestión al mostrar actividad antiamilasa y formar un complejo con la vitamina B (Liener, 1980). Se ha informado de otros efectos nutricionales adversos de los taninos, como daños intestinales y un posible efecto cancerígeno. Otros efectos tóxicos de los taninos son la disminución del consumo de pienso, de la tasa de crecimiento, de la eficiencia alimenticia y de las actividades enzimáticas microbianas, incluida la celulosa y la digestión intestinal, así como el aumento de la excreción endógena de proteínas, el mal funcionamiento del tracto digestivo y la toxicidad de los taninos absorbidos o de sus metabolitos.

Los taninos pueden formar pequeños complejos digestivos con el pienso que son antagonistas de la arginina, interfieren con las proteínas del ARN, se unen e inhiben proteínas endógenas como las enzimas digestivas, hacen que las proteínas no estén parcialmente disponibles y aumentan el nitrógeno fecal (Kumar y Singh, 1984). Los complejos taninos-proteína incluyen tanto enlaces de hidrógeno como interacciones hidrofóbicas. La precipitación del complejo proteína-taninos depende del pH, el tamaño molecular y la fuerza iónica de los taninos. Tanto la precipitación de proteínas como la incorporación de taninos en el precipitado aumentan a medida que el peso molecular de los taninos supera los 5.000 Da, y los taninos se vuelven insolubles y pierden su capacidad de precipitar proteínas. El grado de polimerización se hace entonces necesario para evaluar el papel de los taninos en la nutrición de los rumiantes. Los taninos condensados son responsables de la actividad inhibidora de la tripsina de las habas (Tabla 2).

4.1. Aminoácidos no proteicos

4.1.1. Mimosina

La mimosina es un aminoácido no proteico estructuralmente similar a la tirosina. Está presente en *Leucaena leucocephala*, en cuya hoja el nivel de mimosina es aproximadamente del 2-6% y varía en función de la estación y la madurez de las hojas y los tallos. Los principales síntomas clínicos de toxicidad en no rumiantes incluyen un crecimiento deficiente, problemas reproductivos, cataratas oculares y alopecia. Cuando la *Leucaena* se utiliza como alimento para aves de corral, conejos o cerdos, más del 5-10% de la harina suele provocar un crecimiento y una reproducción deficientes. En los rumiantes, la toxicidad de la mimosina provoca un crecimiento corporal deficiente, un desarrollo deficiente de la lana, niveles séricos de tiroxina deprimidos, bocio; alopecia; coronetes opacos, hinchados y en carne viva sobre las pezuñas; lesiones en la boca y el esófago, y cojera. Los síntomas pueden deberse al metabolito de la mimosina en el rumen o a la 3,4-dihidroxipiridina. Además, Jones et al. (1989) observaron una disminución del porcentaje de partos en bovinos debido a la alimentación con *Leucaena*. Los problemas causados por la mimosina pueden resolverse seleccionando genéticamente especies de *Leucaena* con bajo contenido en mimosina, pero se ha observado que las especies con bajo contenido en mimosina son improductivas y tienen poco vigor; este problema puede resolverse produciendo forrajes de *Leucaena* mezclada con otros forrajes y concentrados. Hiremat (1981) sugirió que el uso de la *Leucaena* puede limitarse al 50% del forraje verde para cabras y al 30% para bovinos y búfalos. Esta estrategia da como resultado un mejor crecimiento y producción del ganado (Tabla 2).

4.1.2. Antivitaminas

Algunos factores antivitaminicos se encuentran en las plantas, especialmente en las leguminosas. Las antivitaminas son compuestos orgánicos que destruyen ciertas vitaminas, se combinan y forman complejos no absorbibles o interfieren con las

funciones digestivas y/o metabólicas (Ramteke et al., 2019).

La antivitamina A en la soya cruda contiene enzimas lipoxigenasas que estimulan la oxidación del caroteno, que es un precursor de la vitamina A. Se puede destruir calentando la soya durante cinco minutos a presión atmosférica. La antivitamina D es un factor raquitógeno en la proteína de soya aislada (sin calentar). Interfiere en la absorción de calcio y fósforo en cerdos y pollos, y se destruye en autoclave. La antivitamina E está presente en la soya y la alfalfa, y provoca distrofia muscular y necrosis hepática en corderos y pollos al reducir la vitamina E plasmática. La antivitamina K del trébol de olor provoca una enfermedad hemorrágica mortal en el ganado vacuno conocida como enfermedad del trébol de olor, en la que el dicumarol reduce los niveles de protrombina en la sangre y afecta a la coagulación sanguínea. Otras antivitaminas son la antitiamina, también llamada tiaminasa, que se encuentra en la semilla de algodón, la semilla de lino, la semilla de mostaza y la judía mungo, y la antiniacina, que se encuentra en el sorgo, el maíz y el salvado de trigo y causa perosis y depresión del crecimiento. Además, la antipiridoxina, también llamada linatina, se ha identificado como 1-amino-D-prolina, y se encuentra de forma natural con el ácido glutámico como péptido, y puede destruirse tras el tratamiento con agua y la autoclave. Por último, la antivitamina B12 se encuentra en la soya cruda (Tabla 2).

5. Varios (por ejemplo, cianógenos, saponinas, nitratos y alcaloides)

5.1. Cianógenos

Cuando se consumen, varias especies vegetales producen cianuro de hidrógeno (HCN) a partir de glucósidos cianogénicos, que son glucósidos de azúcar o polisacáridos que se combinan con cianuro y contienen aglicona. Más de 2,500 especies de plantas contienen glucósidos cianogénicos, entre las que se incluyen importantes alimentos básicos como el sorgo, la mandioca, el trébol blanco y las semillas de lino (Rosling, 1987). Los glucósidos cianogénicos, o cianoglucósidos,

representan aproximadamente el 90% del grupo más amplio de toxinas vegetales conocidas como cianógenos. La característica principal de estas toxinas es la cianogénesis, la formación de HCN libre, que se une a cianohidrininas que han sido estabilizadas por glicosilación (unión de polisacáridos) para formar glucósidos cianogénicos. Además, los glucósidos cianogénicos se clasifican como fitoanticipinas. Su función en las plantas depende de la activación por glucosidasas para liberar HCN volátil tóxico y aldehídos o cetonas para repeler el ataque de herbívoros y patógenos (Zagrobelny et al., 2004). El HCN inhibe la enzima citocromo oxidasa en las mitocondrias de las células al unirse al Fe^{+3}/Fe^{+2} presente en la enzima, lo que provoca una disminución de la utilización tisular de O_2 , causando un aumento de los niveles de glucosa y ácido láctico en sangre, y disminuyendo la relación ATP/ADP, lo que indica un cambio del metabolismo aeróbico al anaeróbico. Además, muchos sistemas enzimáticos inhiben el crecimiento al interferir con ciertos aminoácidos esenciales y la utilización de nutrientes asociados, además de causar intoxicación grave, neuropatía y muerte, el cianuro activa el proceso de glucogenólisis y convierte la glucosa en la vía de las pentosas fosfato, lo que reduce la tasa de glucólisis e inhibe el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. El cianuro reduce entonces la disponibilidad de energía en todas las células, pero su efecto es inmediato en el sistema respiratorio y el corazón. Como el cianuro es muy tóxico, inhibe la enzima citocromo oxidasa, que es el último paso en el transporte de electrones, inhibiendo así la síntesis de ATP. El síntoma más evidente es la muerte, pero antes de ésta, los síntomas incluyen una respiración más rápida y profunda, un pulso más rápido, irregular y débil, salivación y espuma en la boca, espasmos musculares, dilatación de las pupilas y mucosas de color rojo brillante. La toxicidad potencial del cianógeno depende principalmente de la concentración potencial de HCN que pueda liberarse al consumirlo. Cuando se consume una planta cianógena, la β -glucosidasa se libera durante la digestión y sigue las vías metabólicas del cianuro y los procesos toxicocinéticos conocidos tanto en animales como en

humanos (Nartey,1980), y permanece activa hasta que es inactivada por un pH gástrico bajo. Después de que la enzima catabólica intracelular β -glucosidasa se libera al entrar en contacto con los glucósidos, esta enzima descompone los glucósidos cianogénicos para liberar el compuesto tóxico para las plantas HCN, glucosa, cetonas o benzaldehídos (Gonzales y Sabatini, 1989). La reacción hidrolítica puede producirse en el rumen por la actividad microbiana. Por lo tanto, los rumiantes son más susceptibles a la toxicidad por cianuro que los no rumiantes (Smitha-Patel et al., 2013). Tras su absorción, el cianuro se distribuye rápidamente en el organismo animal a través de la sangre. Se combina con el Fe tanto en la metahemoglobina como en la hemoglobina que se encuentran en los glóbulos rojos, lo que conduce a un aumento de la concentración de cianuro en los glóbulos rojos en comparación con la del plasma. El cianuro se desintoxica en el hígado mediante la enzima rodanato, formando tiocianato que se excreta a través de la orina (Oke, 1980). En los animales, existe un rango para la dosis letal de HCN para varias especies (0.66-15 mg/kg de peso corporal). Para el ganado vacuno y ovino, el rango es de 2.0-4.0 mg/kg de peso corporal (Robson, 2007). Además, un nivel superior a 50 mg/kg es perjudicial para la salud de las aves de corral (Udedibie et al., 2004). Se han observado disminuciones en las tasas de crecimiento y producción de huevos cuando el alimento para aves contiene cianuro (Okafor y Okorie, 2006), y la toxicidad aguda del HCN en conejos se produce a 0.66 mg/kg de peso corporal (EPA, 1990). La presencia de cianógenos en los alimentos también puede agotar los aminoácidos azufrados de las aves, lo que reduce la síntesis proteica y el crecimiento, ya que una cantidad adecuada de aminoácidos es uno de los requisitos básicos para la síntesis proteica. Se ha demostrado la necesidad de suplementar los piensos de yuca con metionina y cisteína (aminoácidos azufrados) para los no rumiantes (Tabla 2).

5.2. Saponinas

Las saponinas son un grupo heterogéneo de triterpenos productores de espuma o glucósidos esteroideos que están ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se producen principalmente en el reino vegetal, incluidas las leguminosas, semillas

oleaginosas, cacahuets, alubias lupinas, etc., girasol y alfalfa, con niveles menores en otras leguminosas como la soya, la colza y varias variedades de guisantes. El nombre 'saponina' se deriva de la palabra latina *sapo*, que significa 'jabón' porque las moléculas de saponina forman espumas parecidas al jabón cuando se agitan con agua. Las saponinas consisten en aglycones no polares acoplados con una o más mitades monosacáridas (Oleszek, 2002). Esta combinación de elementos estructurales polares y no polares en sus moléculas explica su comportamiento similar al jabón en soluciones acuosas. La complejidad estructural de las saponinas da lugar a varias propiedades físicas, químicas y biológicas, tales como dulzura y amargura, espumante y emulsionante, propiedades farmacológicas y medicinales, propiedades hemolíticas y actividades antimicrobianas, insecticidas y moluskicidas (Gemede y Ratta, 2014). Las saponinas han sido reconocidas como metabolitos secundarios debido a sus efectos adversos, incluyendo el crecimiento e ingesta reducida debido a la amargura y la irritación de la garganta que causan. Las saponinas dietéticas se absorben mal, debido a su capacidad para formar complejos con esteroides, lo que lleva a efectos biológicos dañinos en el sistema digestivo (Cheeke, 1996). Las saponinas aumentan la permeabilidad de las células de la mucosa intestinal, previenen el transporte activo de la mucosa y facilitan la absorción de sustancias que normalmente no se absorben (Johnson et al., 1986). Además, reducen la biodisponibilidad de nutrientes, disminuyen la actividad enzimática y afectan la digestibilidad de las proteínas al inhibir varias enzimas digestivas como tripsina y quimotripsina (Simee, 2011). Las saponinas reducen la absorción de ciertos nutrientes, incluyendo glucosa y colesterol en el intestino a través de una interacción fisicoquímica intra-luminal; por lo tanto, provocan hipocolesterolemia (Umaru et al., 2007).

Además, las saponinas pueden formar complejos con Fe dietético, impidiendo su absorción (Southon et al., 1988). De hecho, se sabe que las saponinas tienen acción lítica (la capacidad específica de formar poros en las membranas) en las membranas de los eritrocitos, causando hemólisis en los glóbulos rojos.

Dado que reducen la tensión superficial de la sangre en animales de sangre fría, las saponinas tienen un efecto altamente tóxico. Reducen el crecimiento en aves y cerdos. En pollos, las saponinas reducen el crecimiento y la eficiencia alimentaria e interfieren con la absorción de lípidos dietéticos, vitamina A y E (Jenkins y Atwal, 1994). En comparación con los no rumiantes, las aves de corral son más sensibles a las saponinas. Las saponinas aumentan la digestibilidad de los alimentos ricos en carbohidratos a través de la actividad similar a un detergente que reduce la viscosidad, evitando la acción de bloqueo normal de dichos alimentos en el intestino. En general, las saponinas son de menor preocupación en los no rumiantes porque solo están presentes en niveles bajos en los piensos comunes (Tabla 2).

5.3. Nitratos

Los nitratos son una forma de metabolitos secundarios vegetales cuya toxicidad está asociada con el consumo de plantas que los contienen y que causa problemas de salud, como hinchazón, la intoxicación por trébol dulce o la tetania hierba/ invierno. Para que exista la intoxicación por nitratos, los forrajes deben ser dañados por las heladas, el granizo, la sequía o incluso las condiciones climáticas frías y nubladas repentinas. Las plantas afectadas son consumidas por los rumiantes. La toxicidad del nitrato es una condición causada por el exceso de nitratos en los alimentos, lo que lleva a una condición peligrosa en los rumiantes que puede causar una falta de O₂ en el torrente sanguíneo; la muerte puede resultar si no se trata inmediatamente. Es posible tratar la toxicidad del nitrato, pero es muy difícil identificar a los animales con síntomas de intoxicación por nitrato. Algunos cultivos forrajeros como el pasto Sudán, el mijo perla (Andrews y Kumar, 1992) y la avena pueden acumular nitratos a niveles potencialmente tóxicos.

La mayor parte del nitrato se acumula en el tallo, seguido de las hojas, y muy poco se encuentra en los granos (Singh et al., 2000). La toxicidad por nitratos se produce principalmente en los rumiantes cuando los animales consumen piensos que contienen exceso de nitrato (NO_3^-), que las bacterias ruminales convierten en nitrito (NO_2^-) (Tabla 2).

5.4. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos químicos sintetizados por las plantas a partir de aminoácidos, y generalmente se encuentran como sales tales como málico, oxálico, cítrico, o ácidos tartáricos, que son pequeñas moléculas orgánicas que se encuentran en el 15-20% de todas las plantas. Por lo general, los alcaloides consisten en varios anillos de carbono con cadenas laterales reemplazadas por uno o más átomos de carbono o nitrógeno. La descarboxilación de aminoácidos produce aminas que reaccionan con los óxidos de amina para formar aldehídos. El anillo heterocíclico característico en los alcaloides sufre condensación de tipo Mannich de grupos aldehídos y aminas (Yilkal, 2015). El tipo químico de su anillo de nitrógeno proporciona los medios por los cuales los alcaloides están sub-clasificados; por ejemplo, los glicolaloides (fracción de aglicona) glicosilada con una fracción de carbohidratos se forman como subproductos metabólicos. Los insectos y herbívoros son repelidos por alcaloides debido a su toxicidad potencial y sabor amargo (Yilkal, 2015). Los altramuces contienen altos niveles de alcaloides, específicamente alcaloides de quinolizidina, mientras que la soya y la linaza pueden estar contaminadas por *Datura stramonium*. La linaza también contiene alcaloides de escopolamina e hiosciamina (Dublecz, 2011). Los tubérculos de papa contienen naturalmente los dos glucoalquiloides tóxicos y amargos, α -solanina y α -chaconina. Los niveles suelen ser bajos y no tienen efectos adversos sobre la seguridad alimentaria o la calidad culinaria. Sin embargo, el consumo de tubérculos de papa que son inusualmente altos en glucoalquiloides se ha asociado a veces con

toxicidad severa, incluyendo trastornos del tracto gastrointestinal y neurológicos, y la interrupción o aumento inadecuado de la transmisión electroquímica (Fernando et al., 2012). En los tubérculos, los niveles de glicosaloides son hereditarios y pueden variar mucho entre las diferentes variedades. Los factores ambientales a los que están expuestos los tubérculos durante la germinación, el crecimiento, la cosecha y el almacenamiento pueden afectar aún más los niveles de glucoalcaloides (Jadhav et al., 2009). De hecho, los efectos fisiológicos de los alcaloides en humanos y animales son bastante evidentes (Gemede y Ratta, 2014). Consumir una dosis alta de alcaloides tropánicos acelerará el latido del corazón, causará parálisis y la muerte. La ingestión de una dosis alta de alcaloides de triptamina causa una marcha asombrosa y la muerte (Fernando et al., 2012; Gemede y Ratta, 2014). Los alcaloides se oxidan en el hígado para producir metabolitos, como la dehidroeosparteína, responsable de la toxicidad observada. El nivel de toxicidad se ve afectado por la composición del alcaloide. Hay un alto grado de variación en la capacidad de diferentes especies animales para tolerar estos compuestos. La toxicidad de los alcaloides y sus metabolitos está principalmente mediada a través del sistema nervioso, aunque también estimulan a las células del hígado a absorber cobre, lo que resulta en toxicidad del cobre. Los cerdos son más sensibles a los alcaloides que las aves de corral. Los glucoalquiloides inhiben significativamente la colinesterasa, y esto también causa síntomas de trastorno neurológico. Los alcaloides causan trastornos del tracto gastrointestinal y neurológicos (Aletor, 1993). Las cumarinas, que son componentes de la alimentación, se han asociado con la enfermedad hemorrágica en el ganado que consume trébol dulce en mal estado. Las condiciones de pH alcalino generalmente mejoran la absorción de glicolaloides, ya que la unión a esteroides en las membranas celulares conduce a una interrupción adicional (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos deletéreos y benéficos de algunos anti-nutrientes sobre el ganado.

Tipo de metabolitos secundarios	Efectos deletéreos	efectos benéficos
Inhibidores de enzimas	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce la digestión y absorción de proteínas • Perturba las funciones digestivas • Reduce la biodisponibilidad de los minerales • Disminuye el crecimiento • Causa diarrea o gases excesivos • Hipertrofia pancreática • Deprime del crecimiento animal 	<ul style="list-style-type: none"> • Disminuir las incidencias de cáncer de páncreas • Actuar como agentes anticancerígenos

Lectinas
(Hemagglutininas)

- Perjudica el crecimiento animal
- Daño causado al epitelio del intestino delgado
- Reduce la absorción de nutrientes
- Causa daños en el tracto gastrointestinal
- Causar pérdida endógena de nitrógeno y utilización de proteínas
- Aumento del catabolismo proteico,
- Descomponen las grasas almacenadas y el glucógeno
- Altera el metabolismo mineral
- Estimula la hipertrofia y la hiperplasia del páncreas

	<ul style="list-style-type: none"> • causar hemaglutinación y anemia • Permite que las bacterias y sus endotoxinas entren en el torrente sanguíneo y causen una respuesta tóxica 	
Taninos	<ul style="list-style-type: none"> • Disminuye de la tasa de crecimiento • Disminuye de la biodisponibilidad de los aminoácidos • Reduce la digestibilidad de las proteínas • Disminuye de la palatabilidad y la ingesta de alimento • Un complejo menos digerible con proteínas dietéticas • Inhibe la proteína endógena como las enzimas digestivas • Interfiere con la absorción dietética de hierro 	<ul style="list-style-type: none"> • Mostrar actividad antioxidante, antibacteriana, antidiarreica, eliminación de radicales libres, anti-proliferativa • Reducir la degradación de proteínas durante el ensilaje • Aumentar la eficiencia de la utilización de proteínas • Reducir la carga parasitaria de tracto gastrointestinal • Prevenir la hinchazón

	<ul style="list-style-type: none">• Tiene la capacidad de complejo con vitamina B	<ul style="list-style-type: none">• Reducir las emisiones de N al medio ambiente• Reducir las emisiones de metano• aumentar la calidad de los productos animales• Mejorar el aumento de peso vivo, la eficiencia reproductiva y la producción de lana en ovejas• Aumentar la absorción de aminoácidos en el intestino delgado
--	---	---

Mimosina	<ul style="list-style-type: none"> • Actúa como un aminoácido • Conduce a la inactivación de la catalítica, transaminasas, • Causa un crecimiento corporal deficiente, un desarrollo pobre de la lana • Deprime el nivel sérico de tiroxina, causa alopecia y bocio, embotamiento, cororedes inflamadas y crudas por encima de las pezuñas, lesiones de la boca y el esófago y cojera 	
Ácido fítico	<ul style="list-style-type: none"> • Quelación de cofactores minerales o interacción con una proteína • Reduce la biodisponibilidad mineral e inhibir su absorción • Inhibe la acción de la tirosinasa 	<ul style="list-style-type: none"> • Un poderoso antioxidante natural • Reducción de la peroxidación lipídica • Reducir el colesterol • Proteger contra el cáncer • Contra patógenos de transmisión

<p>Gosipol</p>	<p>gastrointestinal, pepsina, tripsina, amilasa y lipasa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reduce la digestión de proteínas • Reduce la disponibilidad de lisina a los no rumiantes • Disminución del apetito, aumento de peso, debilidad de las piernas, producción de huevos y tamaño de los huevos, disminución de la capacidad de eclosión, moteado de yema de huevo causado, es decir, decoloración verde oliva de la yema de huevo en aves de corral • Disminución de la hemoglobina, recuento total de glóbulos rojos, proteína y albúmina en el suero sanguíneo 	<p>alimentaria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad coronaria
----------------	--	---

Oxalatos	<ul style="list-style-type: none">• Forma oxalato de calcio insoluble• Afecta negativamente la absorción y utilización del calcio en el cuerpo animal• Causa irritación severa del revestimiento del intestino	
Cianógenos	<ul style="list-style-type: none">• Deprime el crecimiento• Interferir con los aminoácidos esenciales y la utilización de nutrientes• Inhibe muchos sistemas enzimáticos• Causa toxicidad grave, neuropatía y muerte• Reduce la disponibilidad de energía en todas las células• Inhibe la citocromooxidasa	

<p>Saponinas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce el crecimiento de las aves y causa la producción de huevos pequeños • Agota los aminoácidos que contienen azufre para las aves, lo que resulta en una reducción de la síntesis de proteínas • Inhibidores respiratorios <ul style="list-style-type: none"> • Reduce la tasa de crecimiento, hinchazón (rumiantes) • Reduce la absorción de nutrientes, (monosacáridos, glucosa y lípidos) • Hemólisis en los eritrocitos • Sangre baja y colesterol hepático • Inhibición de la actividad del músculo liso • Altera la integridad de las células epiteliales intestinales 	<ul style="list-style-type: none"> • Antibacteriano y antiprotozoario, antioxidantes, propiedad antitumoral • Reducir el colesterol • Potenciación inmune • Aglutinar amoniaco y sulfuro de hidrógeno, mejorando así la calidad del aire en las granjas avícolas
------------------	---	--

Nitrato	<ul style="list-style-type: none"> • inhibir la fermentación microbiana y la síntesis en rumen • Intoxicación por nitrito • Convierte la hemoglobina en la sangre a metahemoglobina (la sangre se convierte en un color marrón chocolate) • Muerte de animales por asfixia 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción del riesgo de enfermedades coronarias • Forma del primer colágeno que tiene un papel en el proceso de cicatrización de heridas (ungüento de hidrocarburos)
alcaloides	<ul style="list-style-type: none"> • Causa trastornos gastrointestinales y neurológicos • Causa infertilidad 	

Antivitaminas

- De complejos no absorbibles
- Interfiere con las funciones digestivas y/o metabólicas
- anti-vitamina A
- La vitamina D interfiere con la absorción de calcio y fósforo en pollitos y cerdos,
- Anti-vitamina E que causa necrosis hepática y distrofia muscular en pollitos y corderos
- La vitamina K causa una condición hemorrágica fatal en el ganado (conocida como enfermedad del trébol dulce)
- Anti-niacina causa perosis y depresión del crecimiento

6. Efectos benéficos de los metabolitos secundarios

Los efectos benéficos potenciales de los inhibidores de la proteasa siguen sin estar claros, aunque se ha observado una disminución en la incidencia de cáncer de páncreas en una población donde el consumo de soya y sus productos fue alto (Giri y Kachole, 2004). Además, los IP se han asociado con el cáncer de páncreas en animales, y pueden actuar como agentes anticancerígenos (Chunmei et al., 2010). No es necesario eliminar por completo los metabolitos secundarios de las dietas a base de plantas como la de las hojas de *Moringa oleifera* debido a las bajas cantidades de metabolitos secundarios de plantas, como taninos y fenoles hidrolizables, los cuales puede actuar como antioxidantes en la alimentación animal. Además, mejoran la calidad de la carne y reducen las emisiones de metano de los rumiantes (Su y Chen, 2020). Los beneficios de los taninos en la alimentación animal y la salud incluyen una mayor eficiencia en la utilización de proteínas, absorción de aminoácidos (Hervás et al., 2003), antioxidantes, efectos antibacterianos y antidiarreicos, eliminación de radicales libres y actividad anti-proliferativa (Corder, 2006), reducción del parasitismo del tracto gastrointestinal, reducción de la degradación proteica durante el ensilaje (Reed et al., 1990), prevención de la hinchazón, aumento de la calidad de los productos animales, reducción de la emisión de N al medio ambiente y defaunación del rumen, y reducción de la formación de metano de la fermentación ruminal (Waghorn, 2008). Los taninos condensados, en bajas cantidades, ayudan a mejorar el aumento de peso, la eficiencia reproductiva y la producción de lana en ovejas, reduce el efecto del parasitismo del tracto gastrointestinal y disminuye las emisiones de metano de la fermentación ruminal (Waghorn, 2008). Permiten que la proteína dietética evite el rumen para la digestión en el tracto gastrointestinal inferior (Hassanpour et al., 2011), y muestra un efecto bacteriostático sobre la infección por *Salmonella enteritidis* en pollos de engorde y puede reducir la excreción de estas bacterias

(Redondo et al., 2013). Ambos taninos hidrolizables y condensados tienen actividad antimicrobiana contra el crecimiento de *Campylobacter jejuni* (Anderson et al., 2012). Los efectos in vivo de los taninos en el modelo de enteritis necrótica reducen la incidencia y gravedad de las lesiones macroscópicas y mejoran el rendimiento productivo de los pollos de engorde. El ácido tánico puede tratar la diarrea porque causa estreñimiento en ausencia de inflamación (Phytolab, 2007). Además, el ácido fítico se ha sugerido como un almacenamiento de cationes, grupos fosforilos de alta energía y quelatos de hierro libres, haciendo del ácido fítico un potente antioxidante natural (Mueller, 2001). El ácido fítico puede reducir el colesterol y proteger contra el cáncer intestinal inducido por el hierro. Además, el ácido fítico exhibe propiedades antioxidantes naturales, proporcionando otros beneficios como la reducción de la peroxidación lipídica. De los muchos compuestos vegetales, las saponinas tienen efectos biológicos benéficos, incluyendo antibacterianos, antiprotozoarios (Avato et al., 2006), antioxidantes, antitumorales, reductores de colesterol, potenciadores inmunitarios y anticancerígenos (Blumert y Liu, 2003). Además, las saponinas reducen el riesgo de enfermedades coronarias (Ferri, 2009) y la probabilidad de formación de colágeno, una proteína con un papel en la cicatrización de heridas que también se puede utilizar como ungüento de hidrocarburos. Las saponinas atraen un interés considerable debido a sus efectos benéficos en la industria avícola; pueden unirse al amoníaco y al sulfuro de hidrógeno, mejorando así la calidad del aire.

7. Metabolitos secundarios vegetales y emisión ruminal de gases de efecto invernadero

El ganado altera la biosfera produciendo gases de efecto invernadero a través de mecanismos directos (fermentación entérica) o indirectos (procesamiento de piensos y conversión de agrosilvicultura en forraje). El dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O) son los principales gases de efecto

invernadero producidos por el sector ganadero durante el proceso de producción y causan el calentamiento global (Velázquez et al., 2020). La producción de CO₂ por los animales no es un contribuyente neto al cambio del medio ambiente porque el ganado depende de plantas para su nutrición que utilizan CO₂ para los procesos fisiológicos (Steinfeld et al., 2006). Por otro lado, el CH₄ y el N₂O son gases de efecto invernadero cruciales producidos por el ganado inciden en el calentamiento global (Solomon et al., 2007). La ganadería contribuye aproximadamente al 18% de las emisiones antropógenas mundiales de gases de efecto invernadero. En 2005, la producción antropógena mundial de gases de efecto invernadero de los sistemas agrícolas fue de aproximadamente 6.2 gigatoneladas equivalentes de CO₂, y los animales compartieron alrededor del 9% (IPCC, 2007). En general, los animales producen gases de efecto invernadero como subproducto del mecanismo de digestión, y estos gases (especialmente el CH₄) están atrapados en la atmósfera, causando el calentamiento global.

Los rumiantes son los principales contribuyentes a los gases de efecto invernadero, con aproximadamente el 80% de las producciones del sector total (Opio et al., 2013). Por otro lado, los no rumiantes aportan solo alrededor del 9% de las producciones del sector (Gerber et al., 2013). Del mismo modo, los pequeños rumiantes tienen contribuciones menores de alrededor del 8.5% (Opio et al., 2013). Las emisiones de gases de efecto invernadero del ganado se calculan como el 15% de todas las producciones inducidas por el hombre. La fermentación de los piensos es la fuente de precios de las producciones de gases de efecto invernadero, indicando aproximadamente el 45% de los gases de efecto invernadero de todo el sector agrícola. Según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, la liberación de CH₄ de la fermentación entérica representa el 20% de las producciones totales de CH₄ de los recursos antropogénicos (EPA, 2011). Según la EPA (2006), las producciones de CO₂ de animales representarían alrededor del 8% de los gases de efecto invernadero producidos en 2020.

Se ha convertido en una preocupación mundial debido a sus efectos posteriores en el clima mundial. La agricultura, la silvicultura y el cambio de uso de la tierra representan 20.3 GtCO₂e (Ahmed et al., 2020). Contribuye a cerca del 24% de las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero (IPCC, 2014). Estas emisiones provienen principalmente de la fermentación entérica, la silvicultura y el cambio de uso de la tierra, el cultivo de arroz, el estiércol, el uso de energía agrícola, fertilizantes sintéticos, la quema de sabanas y los desechos de alimentos globales, etc. (FAO, 2016; WRI, 2018) que libera, óxido nitroso y metano a la atmósfera. La fermentación entérica se considera el factor más importante en relación con las emisiones de gases de efecto invernadero de los rumiantes, ya que aproximadamente el 30% de las emisiones totales de CH₄ proviene de la fermentación de los piensos, lo que supone una pérdida del 2-12% de la energía ingerida por los animales (FAO, 2020). Las emisiones de gases de efecto invernadero en la agricultura han aumentado de 71.6 a 174.6 Mt de CO₂ equivalente en un período de 1994-2015; la que la emisión entérica tiene una participación del 45.1% (Ijaz y Goheer, 2020). La ganadería afecta el medio ambiente, la biodiversidad y la funcionalidad de los ecosistemas a través del consumo de recursos finitos (tierra, agua y energía), la producción de flujos físicos (como nutrientes, gases de efecto invernadero y sustancias tóxicas) y también produce bienes y servicios (Unión Europea, 2020). A nivel mundial, entre 2005-2015, las emisiones procedentes de la agricultura aumentaron un 8% y a nivel regional, Asia, América Latina y el Caribe, África, Europa, América del Norte y Oceanía aportaron alrededor del 44%, 17%, 15%, 11%, 9% y 4%, respectivamente, de las 5,246 kilotoneladas mundiales de CO₂-emisiones equivalentes de la agricultura (FAOSTAT, 2016). África oriental y occidental, Asia oriental, meridional y de Pascua y América meridional, representan el 62%, el 73% y el 87% de las emisiones agrícolas en África, Asia y América Latina y los carrizos, respectivamente. La fermentación entérica, el estiércol dejado en los pastos, el fertilizante sintético, el

arroz con cáscara, el manejo del estiércol y la quema de sabanas representan el 40%, 16%, 12%, 10%, 7% y 5% de los emisores agrícolas mundiales (FAOSTAT, 2016). En América Latina y el Caribe, África y Asia, las emisiones relacionadas con el ganado (fermentación entérica, estiércol dejado en los pastos, manejo de estiércol) representan las emisiones agrícolas más altas del 86%, 69% y 52%, respectivamente (FAO, 2016).

La fermentación entérica es un proceso biológico que se produce en el intestino grueso o posterior del ganado para garantizar la descomposición microbiana del alimento consumido, y este proceso lleva a la producción de muchos productos de fermentación, incluido el metano. La fermentación entérica sigue siendo el factor que más contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero en los países en desarrollo. En el período 2005-2014, la fermentación entérica representó el 59%, el 39% y el 34% de las emisiones agrícolas en América Latina y el Caribe, África y Asia, respectivamente (FAOSTAT, 2016). La emisión entérica de 1990-2018 muestra que hubo un total de 1,939,090 gigagramos con África, América, Asia Europa y Oceanía emitiendo 35,2%, 32,7%, 14,4%, 13,9%, 3,8% de Asia, América, África, Europa y Oceanía respectivamente (FAOSTAT, 2018). De la emisión entérica total, 54.7%, 18.9%, 10.5%, 7%, 4.4% y 4.5% son emitidas por bovinos productores de carne, bovinos lecheros, búfalos, ovinos, caprinos y equinos, camellos, asnos y porcinos combinados (FAOSTAT, 2018). La FAO (2017) muestra que el metano, el óxido nitroso y el óxido de carbono representan el 50, 24 y 26% de las emisiones en el sector ganadero. Estos hechos indican la necesidad de reducir los gases de efecto invernadero procedentes del ganado. A pesar de centrarse en la emisión de gases de efecto invernadero del ganado, algunos autores han cuestionado el verdadero impacto del metano del ganado en nuestro medio ambiente (Allen et al., 2018). Esto se basa en la relativa "vida útil" y el bio-reciclaje de CO₂ por el ganado (Cain, 2018; Allen et al., 2018). Se sabe que la vida útil del metano es inferior a una década en comparación con el dióxido de carbono y el N₂O

con una vida útil más larga (1000 años). Por lo tanto, si los rumiantes no aumentan, la emisión de metano de los rumiantes se recicla porque no se añade carbono nuevo a la atmósfera. Esto se debe a que la fotosíntesis de las plantas convierte el dióxido de carbono en carbohidratos de origen vegetal (celulosa), y los rumiantes convierten estos forrajes en energía y proteína de alta calidad y, en el proceso, se produce CH₄. El CH₄ emitido durante la fermentación entérica y del estiércol dura aproximadamente una década en la atmósfera y se descompone en dióxido de carbono y agua. El CO₂ del rumiante se convierte en uno reciclado comparado con el CO₂ de otro sector agrícola e industria de combustibles fósiles. No obstante, los agricultores de los países en desarrollo en los que la intensidad de las emisiones por kg de producto es elevada deben seguir mejorando la productividad de sus animales para reducir la necesidad de añadir más animales, lo que se traducirá en un aumento de las emisiones de metano. Adegbeye et al. (2020), Ahmed et al. (2020), Frank et al. (2019) han recomendado el uso de aditivos para piensos en la agricultura mundial para reducir las emisiones de gases. Para reducir la emanación de CH₄ en los rumiantes se han empleado diversas prácticas dietéticas, como el uso de aditivos para piensos, forrajes de alta calidad y la inclusión de ionóforos. Diferentes aditivos como probióticos, extractos de plantas y aceites esenciales han mostrado un efecto prometedor en términos de reducción de los gases de efecto invernadero o redirección de iones de hidrógeno lejos de la metanogénesis (Hassan et al., 2020; Reddy et al., 2020).

8. Manipulación dietética

Entre las diversas estrategias para la mitigación de los gases de efecto invernadero, la manipulación de la dieta es un enfoque ideal que no sólo mejora la productividad de los animales, sino que también reduce la producción de gases de efecto invernadero. La alteración de la dieta puede disminuir la producción de CH₄ hasta un 30% en función del grado de variación y la característica de la intercesión (Benchaar et al., 2001).

La emisión de CH₄ puede disminuir hasta un 70% al alterar los componentes nutricionales (Mosier et al., 1998). La alimentación con dietas con aditivos alimenticios no solo puede mejorar la calidad del forraje, sino también directamente apuntar a la metanogénesis o cambiar los mecanismos metabólicos, causando la reducción de la metanogénesis. Los suplementos alimenticios como ácidos orgánicos, probióticos, enzimas exógenas y plantas o árboles más pequeños se incorporan a la dieta para reducir la emisión de gases de efecto invernadero del ganado (Fig. 1).

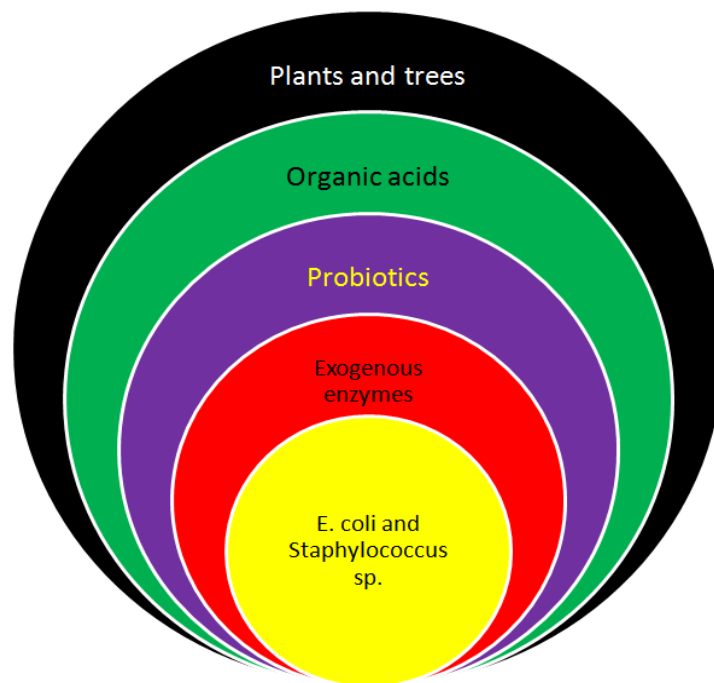


Fig. 1. Varios suplementos alimenticios para reducir la emisión de gases de efecto invernadero de los animales de granja.

8.1. Impacto de los metabolitos de las plantas y de los árboles

Las plantas poseen diversos metabolitos secundarios que pueden ser explotados como ingredientes para piensos, así como aditivos para piensos para mitigar la emisión de gases de efecto invernadero del ganado (Salem et al., 2014).

Las hojas de los árboles y los metabolitos secundarios de las plantas se consideran generalmente seguros para modificar el mecanismo fermentativo de los microorganismos ruminales. Varios fitoquímicos, a saber, terpenoides, saponinas, taninos, fenólicos, alcaloides, glucósidos fenólicos, aceites esenciales, etc. modifican el proceso fermentativo ruminal (Salem et al., 2015). La potencialidad de los suplementos dietéticos derivados de las plantas depende de los tipos, fuentes y niveles de distintos metabolitos bioactivos (Elghandour et al., 2015). Los metabolitos secundarios de las plantas mejoraron la digestibilidad del alimento porque mejoran la eficiencia de la actividad microbiana ruminal. Los extractos de hojas de diversas plantas con un aumento de los niveles de flavonoides y taninos redujeron la emisión de CH₄ y aumentaron los recuentos de microbiota (Broudiscou et al., 2002). Además, los fenoles y las saponinas son otros metabolitos secundarios importantes que mejoran la eficiencia de la utilización de alimentos y mitigan la metanogénesis mediante la supresión de protozoarios y bacterias ruminales (Dohme et al., 1999). El efecto de varios árboles y extractos de plantas en la producción de gases de efecto invernadero de animales se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Efecto de la inclusión de follaje de árboles y extractos vegetales sobre la mitigación de la producción de gases de efecto invernadero.

Especie vegetal	Metabolito principal	Dosis/nivel dietético	Especie animal	Dieta basada en ingredientes/s	Impacto en la producción de gases de efecto invernadero	Referencia
<i>Medicago sativa</i> , <i>Pistacia vera</i> , <i>Dalbergia retusa</i> , <i>Crescentia alata</i> , <i>Azadirachta indica</i> , <i>Eichhornia crassipes</i> , <i>Cnidocolus chayamansa</i> , <i>Guazuma ulmifolia</i> , <i>Vitex mollis</i> , and <i>Moringa oleifera</i>	Fenoles y saponinas	1 g/kg	Terneros	Ración mixta	Reducción de la producción de CH ₄ y CO ₂ .	Elghandour et al. (2017c)

<i>Moringa oleifera</i>	-	0.6 y 1.8 mL/g	Cabras	Paja de avena, maíz molido, pasta de soya, urea, melaza y aceite de girasol	Disminución proporcional de las emisiones de CH ₄ y CO ₂ .	Pedraza-Hernández et al. (2019)
<i>Andropodon gayanus</i> , <i>Brachiaria ruziziensis</i> , <i>Pennisetum purpureum</i> , <i>Cajanus cajan</i> , <i>Cratylia argentea</i> , <i>Gliricidia sepium</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Stylosanthes guianensis</i> , <i>Annona senegalensis</i> , <i>Moringa oleifera</i> , <i>Securinega virosa</i> , and <i>Vitellaria paradoxa</i>	-	1 g/kg	Vacas	Ración mixta	Reducción de las emisiones acumuladas de gas y CH ₄ .	Meale et al. 2012

<i>Melia azedarach</i> , <i>Ziziphus mucronata</i> , <i>Morus alba</i> y <i>Rhus lancea</i>	Fenoles y taninos	400 mg/g	Oveja	Raciones mixtas	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Gemeda y Hassen (2015)
Aceite de colza, aceite de cártamo y aceite de linaza	-	50 g/kg	Vacas	Dieta de forraje a concentrado (60:40)	Reducción de la emisión de CH ₄ ruminal.	Bayat et al. (2018)
Aceites de oliva, de girasol o de linaza	-	6%	Oveja	Ración mixta de alta concentración	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Vargas et al. (2020)
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>Orientalis</i> , <i>Allium sativum</i> , <i>Allium cepa</i> , <i>Zingiber officinale</i> , <i>Citrus unshiu</i> y <i>Lonicera japónica</i>	-	20 mg/g	Vacas Holstein	Ración alta en concentrado	Disminución de las emisiones de CH ₄ .	Kim et al. (2012)

<i>Litchi chinensis</i> , <i>Melastoma malabathricum</i> , <i>Lagerstroemia speciosa</i> , <i>Terminalia chebula</i> y <i>Syzygium cumini</i>	Taninos	200 mg/g	Toros mestizos Holstein-frisonos	Ración mixta de paja de mijo (<i>Eleusine coracana</i>) y mezcla de concentrado comercial	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Baruah et al. (2018)
<i>Origanum vulgare</i>	-	500 g/kg	Vacas	Dieta basal	Reducción de la producción de CH ₄ .	Tekippe et al. (2013)
Camaldulensis	-	100 y 200 g/kg	Holstein Friesian vacas no lecheras	paja de arroz ad libitum, junto con el concentrado Paja de arroz con dieta concentrada	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Manh et al. (2012)

<i>Thymus</i> spp. y <i>Origanum</i> spp.	Aceite	5-5000 mg/L	Vacas	Forraje: dieta concentrada (60:40)	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Castillejos et al. (2006)
Semillas de colza, girasol y linaza	Aceite	20 y 40%	Vacas	La dieta concentrada consistía en cebada y harina de soya	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Machmulleur et al. (1998)
Aceite de canola, aceite de hígado de bacalao y aceite de coco	Aceite	10%	Holstein novillo	Heno de hierba o una mezcla de trigo: heno 90%:10	Reducción de las emisiones de CH ₄ .	Dong et al. (1997)

Aceite de coco y ajo en polvo	-	7% de aceite de coco, 50 y 100 g de extracto de ajo	Búfalos	Paja de arroz	Reducción de la emisión de CH ₄ .	Kongmuna et al. (2011)
Aceite de girasol	-	400 g/kg	Holstein novillos	75% ensilaje de cebada, 19% grano de cebada laminado al vapor y 6% suplemento	Disminución de las emisiones de CH ₄ .	McGinn et al. 2004
Cártamo y aceites de pescado	-	2,4 y 4,8% v/p	Caballos	Maíz laminado al vapor	Mitigado <i>en vitro</i> CH ₄ , CO ₂ y H ₂ emission.	Velázquez et al. (2020)

<i>Acacia concinna</i> , pulpa de semillas de <i>Terminalia chebula</i> , <i>Terminalia belerica</i> , <i>Emblica officinalis</i> y semilla de <i>Azadirachta indica</i>	Taninos	0,25 y 0,5 mL/g	Búfalo	Mezcla de paja y concentrado de trigo en proporción 1:1	Reducción de la producción de CH ₄ entérico.	Patra et al. (2006)
<i>Schizochytrium</i> microalgas y aceite de girasol	-	1-5%	Novillos Holstein y cabras criollas	Dieta de heno y concentrado de avena	Mitigación de las emisiones de CH ₄ y CO ₂	Elghandour et al. (2017d)
<i>M. oleifera</i>	Taninos y fenoles	-	Novillos Holstein y cabras criollas	Heno de alfalfa, maíz amarillo triturado, harina de soya y salvado de trigo	Disminución de las emisiones de CH ₄ pero aumento de la producción de CO ₂ .	Elghandour et al. (2017e)

Aceite de ajo	-	30- 500 μL/g	Terneros lecheros de Holstein	Dieta concentrada	Disminución de las emisiones de CH ₄ y CO ₂ .	Hernandez et al. (2017)
<i>M. oleifera</i>	-	0.6, 1.2 y 1.8 mL/g	Holstein novillos	Dieta experimental basal que contiene avena paja, cáscaras de soya, cebada, salvado de trigo, gluten de maíz y melaza	Reducción de las emisiones de CH ₄ y CO ₂ .	Elghandour et al. (2018c)

<i>M. oleifera</i>	-	0.6, 1.2 y 1.8 mL/g	Holstein novillos	Heno de alfalfa y pienso comercial concentrarse	Reducción de las emisiones de CH ₄ y CO ₂ .	Parra-Garcia et al. (2019)
<i>M. oleifera</i>	3,5-bis(1,1- dimethylethyl)-phenol, kaempferol, moringyne, niazimisin, y ácido tetradecanoic	-	Caballos	-	Mitigación de la emisión de CH ₄ (en silicio).	Khusro et al. (2020)
Ruibarbo	9,10- antracenodiona, 1.8- dihidroxi-3-metilo, éster de isobutil octadecilo del ácido ftálico y ftalato de diisooctilo	-	Rumiantes	-	Mitigación de la emisión de CH ₄ (en silicio).	Arokiyaraj et al. (2019)

'-' = No disponible.

In vitro y en vivo se han estudiado rasgos metanogénicos de taninos (Goel y Makkar, 2012). Los taninos inhiben la microbiota ruminal y la suplementación de forrajes ricos en taninos como alfalfa, sulla, trébol rojo, achicoria y loto a rumiantes reduce efectivamente la emisión de CH₄ (Ramirez-Restrepo y Barry, 2005). A pesar de los atributos mitigadores del CH₄ de los taninos, estos fitoelementos en grandes concentraciones dificultan la digestibilidad del forraje y la productividad animal, restringiendo así su uso como aditivo para piensos (Beauchemin et al., 2008). Las saponinas son glucósidos activos en la superficie presentes en diversas especies de plantas que disminuyen la emisión de CH₄ (Patra y Saxena, 2009). Se sabe que las saponinas exhiben características antiprotozoarias al formar esteroides complejos en las membranas celulares de los protozoos (Goel y Makkar, 2012) y también poseen propiedades antibacterianas (Moss et al., 2000). Las saponinas exhiben propiedades anti-protozoarias a baja concentración, mientras que una concentración más alta suprime los microbios productores de CH₄. Se ha reportado una reducción del 50% de la producción de CH₄ con la suplementación de saponinas en rumiantes (Patra y Saxena, 2009).

Elghandour et al. (2017c) demostraron la reducción de la emisión de CH₄ y CO₂ de terneros suplementados con nueve hojas de árboles diferentes, con hojas de plantas que muestran una significativa emisión asintótica de CH₄ (mL/g de materia seca). Asimismo, la emisión asintótica de CO₂ se redujo significativamente en presencia de varias hojas de árboles. Pedraza-Hernández et al. (2019) exploraron la reducción de la producción de CH₄ y CO₂ en cabras usando extracto de *Moringa oleífera* como suplemento alimenticio. La producción asintótica de CH₄ y la tasa de emisión de CH₄ se redujeron utilizando diversas concentraciones de este aditivo para piensos. La producción proporcional de CH₄ y CO₂ también disminuyó a concentraciones más altas de extracto de *M. oleífera*. Estos autores concluyeron que la suplementación de extracto de *M. oleífera* en dietas es una opción prometedora para mitigar la producción de CH₄ y CO₂ en cabras.

Se estudiaron varias especies de pastos, arbustos leguminosos y arbustos no leguminosos para estimar la tasa de emisión de CH₄ del ganado. La emisión acumulada de gas y CH₄ utilizando estos forrajes varió significativamente después de 24 h. *B. ruziziensis* y *G. sepium* mostraron una tasa moderada de emisión de CH₄ (Meale et al., 2012). En otro estudio, diecinueve plantas con taninos fueron probadas como suplementos alimenticios para la mitigación del CH₄. La ceniza, extracto de éter, carbohidratos no fibrosos, nitrógeno neutro detergente insoluble, nitrógeno ácido detergente insoluble y proteína cruda de las plantas se correlacionaron adversamente con la emisión de CH₄. Por el contrario, la emisión de CH₄ se correlacionó positivamente con la fibra detergente neutra, la fibra detergente ácida, la celulosa y la hemicelulosa. Los taninos redujeron eficazmente la emisión de CH₄ (Gemedda y Hassen, 2015).

Odongo et al. (2010) estudiaron el impacto de plantas que contienen polifenoles, ácidos fenólicos, taninos purificados, plantas que contienen saponina y fracciones aisladas enriquecidas con saponina en el proceso de formación de CH₄ ruminal. Los ácidos cinámicos, cafeico, p-coumaric y ferúlico redujeron la emisión de CH₄. La suplementación de taninos de castaña y zumaque purificados (taninos hidrolizables) redujeron significativamente la producción de CH₄. Sin embargo, los taninos de mimosa y quebracho no redujeron la emisión de CH₄. La inclusión de fenogreco y *Sesbania* en el heno disminuyó la producción de CH₄ por unidad de sustrato degradado.

En otra investigación, Bayat et al. (2018) demostraron la reducción de CH₄ en el líquido ruminal debido a la suplementación de aceites esenciales de plantas (aceite de colza, cártamo y linaza). Vargas et al. (2020) informaron que la inclusión de aceites vegetales (girasol o linaza) en dietas para rumiantes tuvo un impacto favorable en la fermentación ruminal y redujo la emisión de CH₄. Kim et al. (2012) evaluaron los efectos de extractos de *Artemisia princeps* var. *Orientalis*, *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Zingiber officinale*, *Citrus unshiu* y *Lonicera japónica* sobre la reducción del CH₄ en rumiantes.

Entre esos extractos, el extracto de *A. sativum* redujo la emisión de CH₄ en un 20%. Otros extractos de plantas también redujeron las emisiones de CH₄ (ajeno - 8%, cebolla - 16%, jengibre - 16,7%, mandarina - 12%, madrelela - 12,2%) pero el efecto fue comparativamente menor que el del extracto de *A. sativum*. *Litchi chinensis*, *Melastoma malabathricum*, *Lagerstroemia speciosa*, *Terminalia chebula* y *Syzygium cumini* revelaron su capacidad para reducir la producción de CH₄ *in vitro*, por lo que estas plantas podrían utilizarse como aditivo en la dieta animal para reducir la producción de CH₄ (Baruah et al., 2018).

Tekippe et al. (2012) probaron 100 aceites esenciales y plantas para su inhibición de la metanogénesis. El aceite esencial de *Anethum graveolens*, *Lavandula latifolia* y *Ocimum basilicum*, así como *Origanum vulgare* mostraron una reducción de la producción de CH₄ *in vitro*. Evans y Martin (2000) reportaron un potencial mitigador de CH₄ del timol a baja concentración. Del mismo modo, Manh et al. (2012) demostraron una reducción del potencial de producción de CH₄ de aceite de eucalipto. Castillejos et al. (2006) investigaron los atributos mitigadores del CH₄ de los aceites de tomillo (*Thymus* spp.) y orégano (*Origanum* spp.). Estos autores sugirieron que la reducción significativa de la producción de CH₄ se debe principalmente al rasgo antimicrobiano del timol contra algunas bacterias ruminales. Machmulleur et al. (1998) informaron sobre el papel antiprotozoario del aceite de coco, reduciendo así la emisión de CH₄. Un hallazgo similar fue reportado por Dong et al. (1997) quien observó que el aceite de coco era efectivo como inhibidor del CH₄. Kongmuna et al. (2011) observaron que la inclusión del aceite de coco junto con el polvo de *A. sativum* mitigaba la emisión de CH₄ al reducir los recuentos totales de protozoarios ruminales. En una investigación diferente, la adición de aceite de girasol a la alimentación del ganado redujo las emisiones de CH₄ (McGinn et al., 2004). Recientemente, Velázquez et al. (2020) encontraron un efecto sinérgico positivo *in vitro* del aceite de cártamo y pescado en la mitigación de la emisión de CH₄, CO₂ y H₂ en sustratos de equinos.

El extracto de metanol de *Terminalia chebula* mostró una reducción significativa de la emisión de CH₄ in vitro. Además, Goel y Makkar (2012) indicaron que el efecto anti-metanogénico de los taninos depende de las concentraciones de alimento y la presencia de grupos hidroxilo en su estructura. Estos autores mostraron, además, que los taninos hidrolizables inhiben las bacterias metanógenas del rumen mientras que los taninos condensados inhiben la digestión de las fibras. Singhal et al. (2007) demostraron la mitigación in vitro del CH₄ del polvo de pulpa de *Sapindus mukorossi*, *Acacia concinna*, *Madhuca indica*, *Albizia lebbek* y *Yucca schidigera*.

La inclusión de microalgas y aceite de girasol *Schizochytrium* en dietas de novillos Holstein y cabras criollas mostró una reducción sostenible de las emisiones de CH₄ y CO₂ (Elghandour et al., 2017d). La suplementación de hojas de *M. oleifera* en la dieta de novillos Holstein y cabras criollas disminuyó la emisión de CH₄ pero aumentó la producción de CO₂ (Elghandour et al., 2017e). Los hallazgos de Hernandez et al. (2017) mostraron que la suplementación de aceite de *A. sativum* redujo cuadráticamente las emisiones de CH₄ y CO₂ de los terneros de leche alimentados con un alto contenido de concentrado. Elghandour et al. (2018b) investigaron la influencia del extracto de hoja de *M. oleifera* en la emisión de gases de efecto invernadero en novillos Holstein. Se encontró una interacción significativa entre la dieta experimental y las dosis de extracto de hoja de *M. oleifera* con una reducción de la producción de CH₄ y CO₂. El estudio sugirió que el reemplazo de grano de maíz por nopal y la suplementación de hojas de *M. oleifera* pueden usarse para reducir la producción de gases de efecto invernadero de rumiantes. Un estudio *in vitro* similar fue llevado a cabo por Parra-Garcia et al. (2019) quienes concluyeron que el reemplazo del grano de maíz con cáscaras de soya y el suplemento del extracto de *M. oleifera* disminuyeron la producción de gases de efecto invernadero y mejoraron la digestibilidad del alimento.

Estudios recientes de silicio predijeron los atributos de inhibición de la metanogénesis de las plantas medicinales al dirigirse al receptor de metilcoenzima M reductasa en caballos.

Se sabe que los metanógenos convierten H_2 y CO_2 en CH_4 por la acción catalítica de la metil coenzima M reductasa a través de la vía de la metanogénesis (Daly et al., 2001). La metil coenzima M reductasa reduce la metil coenzima M (metil-CoM) [$CH_3-S-CoM$, 2-(metiltio) etanosulfonato] con coenzima B (CoB) (CoB-S-H, 7-thioheptanoil-treoninosfato) a CH_4 . Ellefson y Wolfe (1981) primero caracterizaron la metil coenzima M reductasa como proteína de 300 kD de tres subunidades diferentes dispuestas en forma de configuraciones $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ (Ermler et al., 1997).

Khusro et al. (2020) predijeron los atributos anti-metanogénicos de los ficocomponentes asociados a *M. oleifera* al apuntar al receptor de metilcoenzima M reductasa en caballos usando silicio. Entre los fitonsttuitentes diversificados, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol, kaempferol, moringyne, niazimisin y ácido tetradecanoico revelaron atributos satisfactorios de similitud con el fármaco. Además, en los análisis de silicio de compuestos seleccionados contra el receptor de metil coenzima M reductasa mostró la máxima afinidad del ácido tetradecanoico contra la metil coenzima M reductasa con acoplamiento E-valor de -142,98 KJ/mol, seguido de -133,98 kJ/mol (niazimisin), -110,36 kJ/mol (kaempferol), -93,72 KJ/mol (3,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol) y -92,62 kJ/mol (moringyne). Esta investigación llegó a la conclusión de que el ácido tetradecanoico puede ser utilizado como un metabolito anti-metanogénico prometedor para desarrollar fármacos eficaces para mitigar el CH_4 al combatir la metanogénesis. En otro estudio, Arokiyaraj et al. (2019) describieron las características anti-metanogénicas de los compuestos de ruibarbo utilizando silicio en la metil coenzima M reductasa. Los resultados de acoplamiento indicaron con éxito valores mínimos de energía de unión de tres componentes (9,10-antracenediona, 1,8-dihidroxi-3-metil; éster isobutil octadecil de ácido ftálico y ftalato de diisooctilo) contra la proteína diana metil coenzima M reductasa.

8.2. Aceites esenciales

Se prefieren los aditivos para piensos de origen natural en comparación con los aditivos sintéticos o químicos, debido a su naturaleza libre de residuos y amigables con el medio ambiente, la ausencia de resistencia a los antimicrobianos y los efectos secundarios tóxicos. Además, los aditivos naturales como los aceites esenciales pueden reducir la metanogénesis, ya sea inhibiendo directamente las bacterias arquea ruminales o alterando los patrones de fermentación ruminales mediante la inhibición de bacterias fibrolíticas para controlar el suministro de iones de hidrógeno metabólico a partir de la producción de ácidos grasos volátiles (Cobellis et al., 2016). Muchos aditivos para piensos presentan efectos prometedores en la mitigación del CH₄ en condiciones *in vitro*, pero muestran poco o ningún efecto en condiciones *in vivo*. Esto podría deberse a la adaptación de los microbios ruminales a aditivos alimentarios como los aceites esenciales. Sin embargo, una disminución en la digestibilidad de la fibra en respuesta al tratamiento con aceites esenciales es otro problema serio ya que reduce el rendimiento animal (Benchaar y Greathead, 2011).

Los aceites esenciales se han utilizado ampliamente en la industria alimentaria debido a sus propiedades aromáticas y conservantes. En su mayoría, se extraen de diferentes partes (hojas, frutos, semillas, raíces, madera y corteza) de plantas medicinales y aromáticas, hierbas y especias. Sin embargo, su concentración puede variar debido a diversos factores como el tipo de planta, la etapa de crecimiento y el estrés, así como las condiciones agroclimáticas (luz, temperatura, humedad, tipo de suelo y aplicación de fertilizantes) (Hart et al., 2008). Las principales plantas ricas en aceites esenciales incluyen: orégano, ajo, eneldo, pimentón, casia, enebro, árbol de té, anís, romero, clavo, pino, tomillo, jengibre, pimienta negra, zanahoria, canela, cilantro, comino, eucalipto e hinojo (Benchaar y Greathead, 2011; Ornaghi et al., 2020; Ashmawy et al., 2020). Generalmente, hay cinco grupos principales de aceites esenciales que incluyen hidrocarburos monoterpenos (α -pineno, mirceno, p-cianeno, limoneno y careen), monoterpenos

oxigenados (4-carvomenthenol, terpineol, β -citronellol, citronellylformate, acetato de isobornilo y acetato de geranilo), hidrocarburos de sesquiterpeno (d-elemene, cenedau, caryophyllene, bergamoteno, sesquiphellandrene, farnesene, acoradiene, curcumene, selinene, β -abolene, y muurolene bislene), sesquiterpenos oxigenados (óxido de cariofileno, carotol, daucol e isocalamendiol), y diterpenos (alcanfor). Cabe destacar que todos los aceites esenciales tienen pocos componentes químicos; por ejemplo, la especie *Oraginum*, contiene un 30% de carvacol y un 27% de timol como sus principales componentes (Tabla 4).

Tabla 4. Composición de los principales aceites esenciales derivados de las plantas

Nombre botánico de la planta	nombre común		Principales aceites esenciales	Porcentaje de aceites esenciales individuales	Referencia
<i>Syzygium aromaticum</i>	Clavo		eugenol Chavibetol cariofileno	74.6 19.7 3.5	Alshaikh y Perveen (2017)
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomillo		timol P-cimeno	55.35 11.79	Gedikoğlu et al. (2019)
<i>Thymbra spicata</i>	Zahter		Carvacrol Γ-terpineno	68.20 13,94	Gedikoğlu et al. (2019)
<i>Zingiber officinale</i>	Jengibre		α-zingibereno β-bisaboleno A-curcumeno	9.05 5.40 5.4	Imane et al. (2020)
<i>Piper nigrum</i>	Pimienta negra		Δ-3-careno DL-limoneno cariofileno 2-β-pineno A-pineno	21.5 18.8 17.2 14.3 9.2	Lee et al. (2020)

<i>Daucus carota</i>	Zanahoria		carotol	44.68	Gaglio et al. (2017)
			β -bisaboleno	12,72	
			isoelemicina	11.51	
<i>Origanum vulgare</i>	Orégano		Carvacrol	45.92	Morshedloo et al. (2018)
			P-cimeno	12.01	
			Carvacrol metil éter	9.98	
			C-terpineno	9.7	
			timol	3.69	
<i>Allium sativum</i>	Ajo		Trisulfuro de dialilo	45.9	Dziri et al. (2014)
			disulfuro de dialilo	35,6	
			Trisulfuro de metil alilo	10.4	
<i>Capsicum annuum</i>	Pimentón		carotol	52.3	Silva et al. (2013)
			(Z)- β -Ocimeno	23.6	
			Mentol	13.2	
<i>Juniperus communis</i>	Enebro		Sabino	40.1	Maurya et al. 2018
			A-pineno	7.2	
			Hidrato de cis-sabineno	3.8	

<i>Cinnamomum cassia</i>	Casia		cinamaldehído ácido metoxicinámico Alcohol de bencilo Benzoato de bencilo	69.1 21.18 6.14 3.53	Chahbi et al. (2020)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	Árbol de té		A-Carene A-pineno terpinen-4-ol Γ-terpineno β-pineno	17.41 13.05 13.17 10.06 6.86	Imane et al. (2020)
<i>Pimpinella anisum</i>	Anís		anetol P-alilanol anisaldehído	94.16 2.77 2.66	Öz et al. (2018)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero		A-pineno β-pineno Alcanfor cariofileno	13.36 14.06 7.12 5.77	Imane et al. (2020)

<i>Cinnamomum verum</i>	Canela		eugenol Benzoato de bencilo cariofileno	76,85 3.87 2,97	Božik et al. (2017)
<i>Coriandrum sativum</i>	Cilantro		Linalol Alcanfor Acetato de geranilo	67,8 5.0 3.7	Caputo et al. (2016)
<i>Cuminum cyminum</i>	Comino		A-pineno limoneno Octanal Acetato de geranilo A-thujene Cuminaldehído	18.8 6.06 7,57 6,85 15.1 10.2	Tahir et al. (2016)
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto		Eucaliptol A-pineno D-limoneno	55,43 25,55 5.69	Kassahun y Feleke (2019)
<i>Foeniculum vulgare</i>	Hinojo		trans-anetol L-fenchone limoneno	74,88 11.01 4.67	Kalleli et al. (2019)

<i>Cymbopogon winterianus</i>	Limón		Linalol (R)-(+)-Citronelal antranilato de linalilo	10,97 7,69 3.24	Imane et al. (2020)
<i>Anethum graveolens</i>	Eneldo		abeja eneldo Ácido oleico Carvona	34,7 21.2 15.2	Singh et al. (2017)

Se observó una reducción de 36 y 40% en la producción de CH₄ con la suplementación de 17.3 y 16.6 g de orégano por kg de materia seca, respectivamente, en el ganado (Hristov et al., 2013; Tekippe et al., 2011; Besharati et al., 2020). La suplementación con aceites esenciales de orégano a una tasa de 52, 91 y 130 mg/L *in vitro* disminuyó linealmente la emisión de CH₄ en un 9.7, 14.9 y 11.2%, respectivamente (Zhou et al., 2020). Del mismo modo, la aplicación *in vitro* de mezclas de compuestos activos de aceites esenciales a 600 y 1000 mg/L disminuyó el CH₄ en 5.7 y 17.1%, respectivamente (Joch et al., 2019). Se han utilizado diferentes fuentes de aceites esenciales en la nutrición de los rumiantes. Por ejemplo, *Lippia turbinata* y *Tagetes minuta* han mostrado una disminución de 10 veces en la producción de CH₄ (*in vitro*) causando también alteración del metabolismo del nitrógeno en el rumen (Garcia et al., 2019). Diferentes aceites esenciales de plantas (orégano, ajo y menta) han disminuido la abundancia de Firmicutes y producción de CH₄ mientras que el aumento de Bacteroidetes en el rumen (Patra y Yu, 2015; Elghandour et al., 2018). Del mismo modo, la canela y el comino en polvo, y sus aceites esenciales disminuyeron el gas ruminal *in vitro*, la concentración de NH₃-N y la producción de CH₄ (Jahani-Azizabadi et al., 2011). Recientemente, García et al. (2020) revelaron que la composición química de los aceites esenciales, especialmente la proporción de compuestos oxigenados mostró una interacción positiva con el patrón de fermentación y un efecto prometedor con respecto a la reducción de la mitigación de los aceites esenciales. Recientemente un metanálisis mostró que una mezcla de aceites esenciales exhibió efectos prometedores en el ganado lechero a través del aumento del rendimiento de leche (3.6%), grasa y proteína láctea (4.1%), y la eficiencia alimentaria (4.4%), mientras que disminuyó la ingesta de MS 12.9% y la producción de CH₄ 8% durante un ensayo *in vivo* a largo plazo (Lin et al., 2013). Esto revela el potencial prometedor de los aceites esenciales de plantas para aumentar el rendimiento de leche en vacas lecheras y mitigar la emisión de CH₄. Por el contrario, pocos estudios demostraron

que los aceites esenciales de orégano y alcaravea no redujeron el rendimiento de CH₄ junto con ningún efecto sobre el rendimiento animal y la fermentación ruminal (Olijhoek et al., 2019; Benchaar, 2020). Sin embargo, los aceites esenciales de orégano han demostrado mejorar el rendimiento de crecimiento de las terneras (Wu et al., 2020).

Diferentes aceites esenciales inhiben la NH₃ produciendo bacterias (*Prevotella* spp. y *R. amylophilus*) hasta un 77% en ovejas. La reducción de NH₃ por aceites esenciales vegetales ha sido ampliamente reportada (Lin et al., 2013; Patra and Yu, 2015; Cobellis et al., 2016). Esto revela la capacidad de los aceites esenciales para inhibir la proteólisis, la peptidólisis y la desaminación de los aminoácidos. Por el contrario, también se ha reportado un aumento en la abundancia relativa de especies de *Prevotella* (*P. bryantii* y *P. ruminicola*) en respuesta a la suplementación de niveles más altos de aceites esenciales vegetales (McIntosh et al., 2003). Estos hallazgos divergentes pueden explicarse parcialmente por las condiciones experimentales variables de los estudios, incluyendo el tipo de dietas, la especie vegetal, la dosis y el tipo de aceites esenciales, el pH del líquido ruminal y el animal huésped.

Los estudios han sugerido el uso de una combinación de diferentes aceites esenciales como una mejor estrategia para modular el microbioma ruminal para manipular la fermentación ruminal que el uso de aceites esenciales individuales. Principalmente, porque cada uno de los aceites esenciales posee una mezcla compleja de fitoquímicos y sus efectos sinérgicos pueden conducir a la síntesis de nuevos compuestos con una bioactividad muy diferente que no se puede recoger con compuestos individuales (McIntosh et al., 2003). Además, el uso de la combinación de fitoquímicos también es ventajoso para el huésped en cuanto a la provisión de diversos fitonutrientes de diferentes combinaciones de plantas. Además, los beneficios de esta combinación son su utilidad última para su uso a gran escala en la industria animal como aditivo comercial para la alimentación

animal a fin de tener un impacto general en la mejora de la producción animal mundial y mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero (Tabla 5).

Los microbios del rumen son esenciales para la productividad de los rumiantes, la digestión de los alimentos y la salud animal. Su actividad también influye en la calidad de los productos animales derivados, así como en la cantidad de gases de efecto invernadero producidos por cada animal. Su diversidad asegura la estabilidad del ecosistema ruminal y mejora su adaptación a diferentes estrategias dietéticas y ayuda a hacer frente a estos cambios alternando las vías metabólicas (Edwards et al., 2008). Tanto sintético como natural éstos se utilizan para alterar las actividades microbianas. Los microbios ruminales incluyen bacterias, protozoos, hongos, arqueas y bacteriófagos con diversas diversidades en filo y género (Faniyi et al., 2019). La suplementación con aceite dietético puede dar forma a la comunidad microbiana ruminal (Lillis et al., 2011) porque contienen ácidos grasos insaturados que pueden modular las actividades ruminales con un efecto negativo en el crecimiento de protozoarios y bacterias fibrolíticas (Enjalbert et al., 2017).

Cuadro 5. Aceites esenciales derivados de las plantas y su impacto en las emisiones de gases de efecto invernadero del ganado.

Nombre botánico	Nombre común	Especies animales	Impacto en los GEI	Referencia
Orégano vulgar	Orégano	Ganado	Disminución de la producción de CH ₄	Hristov et al. (2013); Tekippe et al. (2011)
lippiaturbinatay Tagetes minuta	N/A	En cristal	Disminución de 10 veces del CH ₄	García et al. (2019)
Alcaravea (Carum carvi) y orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	Orégano y alcaravea	<i>En vivo</i>	CH ₄ reducido	Olijhoek et al. (2019)
N/A	Mezcla de aceites esenciales	En cristal	CH ₄ reducido	Joch et al. (2019)

NA: No esta disbonible.

Los aceites esenciales y sus componentes activos pueden modificar la fermentación ruminal y la eficiencia energética, disminuir las emisiones de CH₄ (Joch et al. 2016), alterar la comunidad bacteriana ruminal (Zhou et al., 2020), y algunos no han mostrado ningún impacto en los metabolitos de la fermentación ruminal (Tekippe et al., 2013) ni provocan diversidad microbiana (Schären et al., 2017). Este efecto variable del aceite esencial en las actividades de los ecosistemas ruminales sugiere diferentes respuestas de adaptación. Esto puede deberse a cambios en las poblaciones microbianas, a la adaptación microbiana debido a la degradación de los ingredientes bioactivos (Gladine et al., 2007, Benchaar y Greathead, 2011), o a una cantidad inadecuada de ingredientes esenciales capaces de provocar cualquier respuesta (Zhou et al., 2020). La mejora de los lactobacilos y *Dialister* sugiere su impacto en la biohidrogenación ruminal (Patra y Yu, 2015), que también podría influir en la proporción del perfil de ácidos grasos en los productos de los rumiantes. También sugiere el medio por el cual el aceite de orégano podría estar influyendo en el perfil de ácidos grasos de los productos animales a través de la manipulación microbiana. Un aceite esencial comercial CinnaGar (mezcla de cinamaldehído y aceite de ajo) suplementado con 0.0043% de materia seca disminuyó los protozoarios en un 33% y aumentó el protozoario de entodinio en un 3.2% en cultivo continuo (Ye et al., 2018). La disminución de los protozoarios puede influir en la reducción de la producción de CH₄ debido a su estrecha relación con los metanógenos (Newbold et al., 2015; Kim et al., 2019). Este resultado es contrario a la actividad antimicrobiana no específica del aceite esencial contra bacterias, protozoarios y hongos (Cobellis et al., 2016). Se sabe que los protozoarios del rumen ciliados exhiben actividad fibrolítica (Koike y Kobayashi, 2009), y también se ha considerado que los hongos en el rumen producen enzimas fibrolíticas (Yang et al., 2007; Giannenas et al., 2011). En ovinos, la suplementación con aceite esencial de orégano a razón de 4 y 7 g/día mostró variados efectos sobre la población microbiana. Las ovejas suplementadas con 4 g/día mejoraron la población total de bacterias: *R. flavefaciens*, *R. albus*, *F. succinogenes*, mientras que el aceite esencial

de 7 g/día mejoró significativamente la población de hongos (Zhou et al., 2019). Los estudios in vitro e in vivo anteriores mostraron que los microbios y hongos celulolíticos tienden a tener una buena adaptación a diferentes aceites esenciales que les ha permitido proliferar. El efecto aparentemente positivo sobre las bacterias celulolíticas indica que el aceite esencial puede no tener un efecto bactericida, lo que sugiere que el aceite esencial puede ayudar a la degradación de la fibra en los rumiantes. También se podría resumir que la dosificación de aceite esencial afectará la respuesta que se puede obtener de su uso y su efecto sobre la emisión de gases de efecto invernadero, el rendimiento animal y la calidad de los productos animales (Tabla 6).

Tabla 6. Aceites esenciales de plantas y su impacto en la adaptación microbiana ruminal

Nombre común	Principales aceites esenciales	Especies animales	Impacto de la adaptación a aceites esenciales	Referencia
Aceite esencial de orégano	Carvacrol	En cristal	Microbios mejorados (<i>Prevotella</i> , <i>Succiniclasicum</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> , y <i>Marcador</i>) crecimiento	Zhou et al. (2020)
Aceite esencial comercial Cinnagar	Mezcla de cinamaldehído y aceite de ajo	Sistema de cultivo continuo	Disminución de protozoos totales y aumento de protozoarios entodinio.	Ye et al. (2018)
Mezcla de aceites esenciales	Cinnamaldehído, timol y eugenol	En cristal	Aumento del crecimiento de protozoos, hongos y bacterias celulolíticas.	Kim et al. (2019)
Aceite esencial comercial (Crina Rumiantes)	N/A	Ovejas lecheras Chios	Crecimiento mejorado de bacterias celulolíticas.	Giannenas et al. (2011)
Aceites esenciales de orégano	N/A	Ovejas	Población total de bacterias mejorada; Mejora de la población de hongos y disminución de los protozoos.	Zhou et al. (2019)
Aceite esencial del orégano	Carvacrol	<i>In vitro</i>	Incremento microbiano (<i>Prevotella</i> , <i>Succiniclasicum</i> , <i>lactobacillus</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> , y crecimiento de <i>Dialister</i>	Zhou et al. (2020)

Aceite esencial comercial CinnaGar	Blend of cinnamaldehyde and garlic oil	Sistema de cultivo continuo	Disminución de protozoos totales y aumento de protozoarios entodinio	Ye et al. (2018)
Mezcla de aceites esenciales	Cinnamaldehyde, timol, y eugenol	<i>In vitro</i>	Aumento del crecimiento de protozoos, hongos y bacterias celulolíticas.	Kim et al. (2019)
Aceite esencial comercial (Crina Ruminants)	N/A	Ovejas lecheras Chios	Crecimiento mejorado de bacterias celulolíticas	Giannenas et al. (2011)
Aceite esencial del orégano	N/A	Ovejas	Población total de bacterias mejorada; Mejora de la población de hongos y disminución de los protozoos	Zhou et al. (2019)

NA: No está disponible.

8.3. Uso de arbustivas forrajeras en la nutrición de rumiantes

Hasta hace poco, los árboles como recurso alimenticio habían sido ignorados por científicos debido al conocimiento inadecuado de su uso potencial y a la carencia de iniciativa para desarrollar sistemas alimenticios más innovadores. Actualmente los sistemas de producción agropecuarios pretenden alcanzar una comunidad estable, con varios estratos de plantas productoras de follaje y/o frutos con valor nutritivo complementario a los monocultivos (Cayetano, 2014). Un árbol leguminoso *Caesalpinia coariaria* de las regiones tropicales de México, contiene metabolitos secundarios como taninos, ácido gálico y flavonoides. En años recientes se ha utilizado en distintas investigaciones relacionadas con rumiantes, utilizando el follaje y los frutos de este árbol (Campos–Pérez et al., 2021).

8.4. Avances en la nutrición de rumiantes con el uso de aditivos vegetales

Los extractos de árboles forrajeros mejoran el crecimiento y rendimiento en los rumiantes, y tienen efectos benéficos en la digestibilidad de los nutrientes, fermentación ruminal, efectos negativos sobre las poblaciones de parásitos gastrointestinales, así como la mitigación de gases de efecto invernadero (Salem *et al.*, 2021). El efecto de los taninos en la digestión de los rumiantes está asociado con la cantidad de taninos consumidos y su composición química (Campos–Pérez *et al.*, 2021), el uso de los taninos en la nutrición de los animales tienen ventaja ya que tienen un efecto como antioxidantes en la carne de bovinos, contribuyen a mejorar el perfil de los ácidos grasos, este efecto es de mucha utilidad para la industria cárnica ya que pueden mejorar el tiempo de anaquel de la carne (Manuel – Pablo *et al.*, 2018). La manipulación de la fermentación ruminal tiene como objetivos principales aumentar la formación de ácido propiónico, disminución de la formación de metano (responsable de la pérdida de 2% al 12% de la energía de los alimentos) y reducir la proteólisis y desaminación de proteínas de la dieta en el rumen. Algunos aditivos pueden alcanzar algunos de estos efectos, y el aumento de la eficiencia productiva (Irala, 2011).

La alimentación de los rumiantes depende de la producción de biomasa a partir de los forrajes. Sin embargo, las gramíneas no contienen la suficiente proteína cruda que induzca ganancias de peso rápidas y consistentes en el transcurso del año (Ku-Vera *et al.*, 2014).

Recientemente el uso de extractos de arbustivas y árboles forrajeros ha significado un avance en la mejora de la dieta de los rumiantes, desde la calidad de la carne, la disminución de las poblaciones de parásitos que afectan la producción, hoy en día se busca conocer los factores benéficos de estas plantas para un mejor aprovechamiento de los nutrientes, y por ende, una mejora en la producción animal.

8.5. Fisiología digestiva del rumiante

La estructura morfológica clave que caracteriza a los rumiantes es su estómago que está unido a la boca a través del esófago, los rumiantes han evolucionado para tener un estómago con compartimentos que permiten una rica variedad de microorganismos y depender totalmente de ellos para su subsistencia.

Una de las principales diferencias entre un rumiante y otro herbívoro no rumiante mamífero es el uso de los componentes estructurales de las células vegetales. Los rumiantes al ingerir alimento llevan a cabo una mezcla del forraje consumido humedecido en saliva, masticado e ingerido y después de la rumia expuestos a la acción enzimática por los microorganismos del rumen (Pérez-Barberia, 2020).

El proceso de alimentación no sería posible sin la existencia de esos organismos microscópicos que gracias a la labor de investigación ya ha sido posible su cuantificación, de las formas que autores como McDonald *et al.* (1995), nos dice que de bacterias hay entre 10^9 - 10^{10} por mL y más de 60 especies, añadiendo que la población de hongos puede variar entre un 8 a un 10 % del total de la población del rumen y que además el ciclo de vida de estos organismos es en dos tiempos, primero en una zoospora con la capacidad de moverse, seguido de la fase en que ya es un esporangio con la facilidad de adherirse con sus rizoides a las partículas del alimento, mientras que los protozoarios, según Shler *et al.* (1996), se pueden encontrar de 10^5 a 10^6 células/gramo de líquido ruminal.

8.6. Procesos fermentativos en rumiantes

El retículo y el rumen son los dos primeros compartimentos de fermentación del rumiante. El contenido del retículo es permanentemente mezclado con el del rumen, a través de una serie de movimientos denominados A y B, que cumplen un ciclo completo en aproximadamente un minuto. La frecuencia de estos movimientos depende del tipo de dieta consumida por el animal. Estos compartimentos comparten una población compleja de bacterias, protozoos, hongos y levaduras, el omaso es el tercer compartimento, tiene forma redonda y una capacidad aproximada en los vacunos de 10 litros y en ovinos es de 100 a 300 mL, este es un órgano pequeño que tiene una altísima capacidad de absorción de líquidos, permitiendo el reciclado de agua y minerales, tales como sodio y fósforo. Estos son reciclados al rumen a través de la saliva. Como el proceso de digestión entre el rumen y en el abomaso (estómago verdadero) difiere marcadamente, el omaso actúa como un órgano de transición entre estos dos, el cuarto compartimento de los rumiantes, denominado abomaso, ya que es similar al de los no rumiantes. Secreta ácidos fuertes y varias enzimas digestivas, en no rumiantes el alimento consumido comienza aquí su proceso de digestión, sin embargo, en los rumiantes, el material que entra al abomaso está compuesto de partículas de alimentos no fermentadas, algunos productos finales de la fermentación microbiana y protoplasma microbiano de origen ruminal (Santini, 2014).

8.7. Descripción de las características del tracto digestivo de pequeños rumiantes.

El borrego doméstico, *Ovis aries*, es un animal ungulado, con dos dedos, rumiante y herbívoro del que se obtienen principalmente carne, lana, piel y leche. Los ovinos poseen un sistema gustativo desarrollado que le permite ser un “rumiante selectivo” por lo que selecciona su comida y la cortan con sus dientes. La porción correspondiente a la cabeza y glándulas anexas comprende los órganos prensiles consistentes en labios, lengua, dientes incisivos inferiores y lámina dental, la cavidad oral se encuentra recubierta por una mucosa cutánea gruesa y es ocupada en su mayor parte por la lengua. Las glándulas salivales son variables de acuerdo con el tipo de alimentación del animal, el aparato masticador de los rumiantes está conformado por las mandíbulas, dientes y músculos que intervienen en la masticación, la cual es una acción previa a la digestión que permite la reducción de los materiales vegetales hasta un tamaño adecuado para la hidrólisis de los carbohidratos estructurales por los microorganismos del rumen e intestinos. El esófago es un tubo que desemboca en el estómago posee cuatro cavidades: el retículo, el rumen, el omaso y el abomaso, los tres primeros son conocidos como pre-estómagos y poseen una mucosa aglandular (no excretan jugos gástricos), el abomaso es una estructura glandular, el retículo y el abomaso se encuentran unidos por un pliegue denominado retículo-ruminal. El intestino de los rumiantes es caracterizado por su longitud y por su disposición de una cámara distal de fermentación. El intestino delgado posee una mucosa con presencia de vellosidades a diferencia del intestino grueso el cual carece de éstos, las funciones homeostáticas del intestino grueso incluyen el mantenimiento del equilibrio entre los electrolitos y los fluidos, así como un alojamiento para microorganismos (razón por la que aquí se lleve a cabo la absorción de ácidos grasos volátiles), además de ser el almacén temporal de las heces hasta su eliminación (Velázquez et al., 2017).

8.8. Efecto de los extractos de plantas forrajeras a nivel ruminal

Algunos extractos de hojas de árboles contienen una alta concentración de metabolitos naturales como compuestos fenólicos, aceites esenciales, saponinas y alcaloides, estos compuestos secundarios pueden afectar la actividad microbiana del rumen y mejorar el rendimiento del rumiante. Un ejemplo puede ser las saponinas que disminuyen las poblaciones de protozoarios ciliados ruminales y aumentan la biomasa bacteriana y fúngica, además de mejorar la cantidad de proteína microbiana proveniente del rumen (Hernández et al., 2014).

8.9. Bacterias metanogénicas

Los gases de efecto invernadero del ganado son aproximadamente el 44 % de emisiones como el gas metano, en contraste, los pequeños rumiantes tienen porcentajes mucho más bajos en comparación con los grandes rumiantes. A inicios del presente siglo se ha generado un aumento en la población de ovejas y cabras a nivel mundial, por lo tanto, esto puede ocasionar un aumento en las contribuciones generales de la emisión de gases, por lo que es necesario crear un equilibrio que favorezca al medio ambiente, como el uso de aditivos naturales de origen biogénico pueden ser adecuados para animales más sanos así como la mejora de la digestibilidad de los alimentos para rumiantes en zonas tropicales donde los forrajes se caracterizan por su baja proteína cruda y energía fermentables. Los taninos pueden ser utilizados como aditivos naturales para mitigar la emisión de gases y mejorar la producción ganadera, particularmente los taninos condensados, están comúnmente distribuidos en arbustos y forrajes de importancia nutricional consumidos por los rumiantes (Campos-Pérez et al., 2021).

JUSTIFICACIÓN

En la producción de ovinos en el trópico es de suma importancia que se tengan tasas de crecimiento aceptables, por ello es de suma importancia proporcionar una alimentación que les provea los nutrientes necesarios para tal fin, como es una suplementación adecuada y/o una dieta balanceada que contenga ingredientes como maíz, harina de soya, salvado de trigo, pasta de coco, rastrojo, así como también aditivos que no tengan efectos negativos sobre la salud de los animales, pero sí que lleven a cabo una mejora en los procesos digestivos del rumiante y repercutan en mejorar algunos variables productivas.

En el presente trabajo de investigación se utilizó el extracto acuoso del fruto de Cascalote como aditivo alimentario, mismo que ha sido usado en otras investigaciones con otros métodos de extracción, por lo que buscamos conocer el efecto sobre la ganancia de peso, estado de salud, fermentación ruminal, producción de ácidos grasos volátiles, población de bacterias metagénicas y el impacto en helmintos gastrointestinales en corderos.

HIPOTESIS

El uso del extracto acuoso del fruto de cascalote (*Caesalpinia coriara*), mejora algunas variables productivas, digestibilidad, estado de salud, las constantes fisiológicas, disminuye la cantidad de parasitos gastrointestinales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso del extracto acuoso del fruto de cascalote sobre variables productivas, la producción ruminal de metano, monóxido de carbono y sulfuro de hidrógeno *in vitro*, así como el comportamiento alimentario, carga parasitaria y variables fisiológicas en corderos *in vivo*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Evaluar el efecto a largo plazo de la administración oral de extracto de fruto de *Caesalpinia coriaria* Jacq (Cascalote) a corderos sobre la producción ruminal de metano, monóxido de carbono y sulfuro de hidrógeno, y el perfil de fermentación *in vitro*.
- 2- Evaluar el impacto de los compuestos fenólicos, flavonoides y vitamínicos liposolubles identificados que se encuentran en el extracto acuoso de frutos de *Caesalpinia coriaria* sobre el crecimiento, el comportamiento alimentario y las variables fisiológicas en corderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento 1: Evaluación *in vitro*

Recolección del fruto de Cascalote

Para la preparación del extracto, frutos de *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd. fueron cosechadas manualmente de 10 árboles en diferentes zonas del Estado de Guerrero, México, durante marzo y abril. Las muestras de hojas también se recolectaron y almacenaron a temperatura ambiente (30–35 °C) en la oscuridad para la posterior determinación de componentes químicos, metabolitos secundarios y preparación del extracto para los ensayos de producción de gas *in vitro*.

Preparación del extracto acuoso

Las vainas se molieron a un tamaño de partícula de 1 mm usando una licuadora y se extrajeron a razón de 1 g de frutas/8 mL de agua corriente. Los frutos molidos se sumergieron en agua a temperatura ambiente durante 72 h en frascos cerrados de 5 L. Después de la incubación, los frascos se filtraron a través de 4 a 5 capas de gasa y se recolectó el extracto. Los extractos se prepararon semanalmente (volumen de stock de 8 L cada uno); esta mezcla se almacenó a 4 °C antes de la administración oral diaria a los corderos. La composición química del extracto se muestra en la Tabla 1.

Líquido ruminal

El líquido ruminal (LR) se recolectó de corderos al final del experimento (800 g de dos corderos por grupo) de tres grupos de corderos, cada uno compuesto por 8 corderos machos mestizos (cruces de Pelibuey, Black Belly y Criollo) (22 a 28 kg de peso vivo). A los corderos se les ofreció una dieta balanceada (Cuadro 2) dos veces al día, y el consumo de alimento se registró diariamente. El grupo control fue alimentado con la dieta balanceada; un segundo grupo recibió la dieta balanceada más 30 mL de extracto acuoso del fruto de *C. coriaria*. Al grupo tres se le ofreció la dieta balanceada más 60 mL del extracto acuoso de *C. coriaria*. Los corderos recibieron el extracto acuoso durante 60 días consecutivos.

Incubaciones *in vitro*

Dos corderos de cada grupo (0, 30, o 60 mL) fueron sacrificados al final del experimento (60 días), e inmediatamente el contenido del rumen se usó como inóculo para la incubación *in vitro* con la misma dieta suministrada a los corderos durante el experimento. Los contenidos ruminales de cada grupo se mezclaron con los de Goering y Van Soest (1970) solución tampón sin tripticasa en relación vol/vol 1:4. El RL recién mezclado se manejó según el método de Salem et al. (2017) con diferentes dosis (0, 0.6, 1.2, y 1.8 mL) del extracto de *C. coriaria*, considerando como blancos los frascos sin los extractos. Después de llenar todas las botellas con la solución tampón de sustrato, se enjuagaron con CO₂,

tapado con goma, agitado y colocado en una incubadora a 39 °C. La producción total de gas (psi) se registró a diferentes horas después de la incubación, comenzando a las 2 h hasta las 48 h siguiendo la técnica de Theodorou et al. (1994). Además, CH₄, CO y H₂. La producción de S se midió a las mismas horas de incubación usando un detector de gas basado en difusión. MONITOR de Dräger Safety X-am 20,500, Lübeck, Alemania) utilizando una muestra de 5 mL. Después de cada registro, el gas se dispersó utilizando una aguja de jeringa para evitar la acumulación de gas.

Sustrato de la materia seca degradada

Al final del período de incubación (48 h), se midió el pH según Rodríguez et al. (2015), y el residuo de cada botella fue filtrado y enjuagado. Los residuos de fermentación se secaron a 45 °C durante 72 h para estimar la degradabilidad de la MS (Goering and Van Soest, 1970), de acuerdo a Salem et al. (2011).

Análisis químico de la dieta

El análisis proximal de las muestras de dieta (3 submuestras) se realizó de acuerdo con AOAC (1997). Las fracciones de fibra se determinaron utilizando una unidad de analizador de fibra ANKOM200 (ANKOM Technology Corp., Macedonia, NY) de acuerdo con la AOAC (1997), con la fibra detergente ácida (FDA) y la fibra detergente neutra (FDN) determinadas según Rodríguez et al. (2015).

Determinación del contenido de fenoles totales y taninos condensados totales

El contenido fenólico total de los extractos se determinó por un método colorimétrico utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu (2015), y la absorbancia se midió a 765 nm frente a un blanco de reactivo. El contenido de fenoles totales se expresó en mg de ácido gálico equivalente por g. El contenido de taninos se determinó utilizando ácido tánico como compuesto de referencia, siguiendo el método de Ayalew y Emire (2020). Se utilizó el método colorimétrico según la técnica de Sembiring et al. (2018), y la absorbancia se midió frente al blanco de metanol a 510 nm. El flavonoide se expresó como μg de equivalente de quercetina por 1 g de extracto seco.

EXPERIMENTO 2: Evaluación *in vivo*

Preparación y caracterización de frutos de *Caesalpinia coriaria*. Preparación de extracto del fruto.

Los frutos del Cascalote (*Caesalpinia coriaria* (Jacq.) Willd.) fueron recolectados manualmente en el municipio de Tlapehuala, Guerrero, México. Los frutos de *C. coriaria* se secaron a temperatura ambiente y posteriormente se molieron en un molino de martillos con un tamaño de partícula de 1 mm.

Para preparar el extracto acuoso, se recolectaron frutos secos de *C. coriaria* y se molieron en el molino de martillos a 1 mm. Se remojó 1 kg de frutos molidos de *C. coriaria* en 2.5 L de agua destilada. La mezcla se dejó reposar durante 72 h (Babar et al., 2019) y luego se filtró el contenido para obtener el extracto acuoso. Cada semana del experimento, se preparó el extracto para ofrecerlo por vía oral a los corderos y el extracto se almacenó en refrigeración. El porcentaje de extracto se calculó de la siguiente manera: Porcentaje de extracto = [cantidad de extracto (g)/cantidad de muestra de fruto seco (g)] × 100. El porcentaje de extracto fue del 17%.

HPLC para caracterización química del extracto exportado Compuestos fenólicos y flavonoides

Los compuestos fenólicos y flavonoides de los extractos acuosos de *C. coriaria* se identificaron mediante Agilent ChemStation (HPLC- (Agilent, Santa Clara, CA, EE. UU.), que se compone de una bomba cuaternaria, un detector UV/V y una columna C18 (125 mm × 4,60 mm, tamaño de partícula de 5 µm). Se obtuvieron cromatogramas y se analizaron usando HPLC. Los compuestos fenólicos se separaron empleando una fase de gradiente móvil de Disolvente A: agua/acetonitrilo/ácido acético glacial (980/20/5 µl, v/v). v, pH 2,68) y disolvente B: acetonitrilo/ácido acético glacial (1000/5 µl, v/v). El aparato se hizo funcionar a 30 °C con un caudal de 1 mL/min y se detectó a 325 nm [9, 10]. El perfil de gradiente fue del 4% de B al 33% de B linealmente en 90 min, un aumento lineal al 100% de B a los 95 min, seguido de 5 min isocrático, un retorno al 4% de B a los 105 min y 5 min isocrático, para reequilibrar (Clifford, 2003). Todos los estándares químicos (cromatografía líquida de alto rendimiento (grado HPLC) se adquirieron de Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) Los compuestos fenólicos estándar catecol, ácido cafeico, ácido ferúlico y gálico. Se utilizaron ácido siríngico, ácido cinámico y ácido elágico, así como los compuestos flavonoides estándar, crisoeriol, rutina, naringina, quercetina, kaempferol, luteolina, hesperidina y cetaquina.

Vitaminas

Las vitaminas solubles en agua se identificaron en el extracto de frutos de *C. coriaria* de las siguientes maneras: se extrajeron muestras en polvo (0.5 g) mediante ultrasonido (durante 30 minutos a 25 °C) usando metanol/agua (80%, v/v) y luego se filtraron.

El análisis de vitaminas se realizó mediante HPLC (Agilent 1100), que consta de dos bombas LC y un detector UV/Vis. Los cromatogramas se obtuvieron y analizaron utilizando Agilent ChemStation. Para vitaminas solubles en agua; la separación cromatológica se logró en una columna (Agilent ZORBAX C18; 250 x 4.6 mm d.i 5 mm) a través de la fase móvil de suministro isocrático (A/B 33/67; A: MeOH, B: H₃P04 0.0023 M, pH= 3.54) a una caudal de 1,0 mm/min. La absorbancia ultravioleta (UV) se registró a 270 nm a temperatura ambiente (Marzougui et al., 2009).

Evaluación biológica y fisiológica del extracto acuoso

Un total de 24 corderos híbridos, con un peso vivo de 18 a 20 kg, fueron asignados individualmente a corrales de madera durante 60 días. Los corderos se dividieron en tres tratamientos experimentales (8 corderos para cada uno) el grupo control alimentado con la dieta balanceada de libre acceso (CE0), el grupo 2 alimentó la dieta balanceada y se les ofreció 30 mL de extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* (CE30), y el grupo 3 alimentó la dieta balanceada y se le ofreció 60 mL de extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* (CE60). Los animales fueron adaptados a la dieta basal durante 15 días antes de iniciar el período experimental. Los ingredientes de la dieta para laboratorios fueron (% de la dieta): 50, 10, 20, 19 y 1% de vitaminas y minerales mixtos, en los cuales la composición química (% sobre la base de MS) fue 98,12 materia orgánica, 16 materia cruda proteína, 2.6 extracto etéreo, 38 fibra detergente neutra y 15.9 fibra detergente ácida. El extracto se ofreció por vía oral antes de la alimentación de la mañana a las 7:00 a. m. y se ofreció agua por la mañana y por la tarde, 3 litros por turno. Los corderos fueron pesados con una báscula digital colgante CRANE SCALE® los días 1, 15, 30, 45 y 60 del experimento utilizando un arnés que se adaptó a cada cordero para evitar estrés.

consumo de alimento, se agregaron 100 g más a lo consumido por día y se midió el excedente de alimento en cada turno. En cuanto al consumo de agua, se ofrecieron 3 litros de agua por la mañana y 3 litros por la tarde. Al grupo control no se le ofreció ningún extracto, al grupo 2 se le ofreció un total de 30 mL de extracto acuoso por cada cordero del grupo, una cantidad total de 240 mL/grupo, y al grupo 3 se le ofreció 60 mL de extracto acuoso por cada cordero del grupo, una cantidad total de 480 mL/grupo antes del alimento de la mañana durante los 60 días que duró el experimento.

Las variables del comportamiento alimentario (tiempo dedicado a comer, rumiar, descansar y otras actividades como la ingesta de agua y movimientos erráticos) se midieron en dos días consecutivos, los días 1 y 60 del período experimental para cada cordero, utilizando cámaras de video marca HiLook®.

Estos se instalaron estratégicamente para observar el comportamiento de los corderos durante las primeras 48 horas de iniciado el experimento (día 1) y durante las últimas 48 horas día 60 del experimento. Se registró el comportamiento de los 8 corderos de cada grupo; los vídeos fueron guardados en un disco duro para su posterior revisión.

Se recolectaron al azar cinco corderos de cada grupo para obtener muestras fecales mediante estimulación anal. Posteriormente, la carga parasitaria fue evaluada en el laboratorio de la facultad de medicina veterinaria en un intervalo de período del día 0, 10, 30 y 60 después del inicio del estudio. Se utilizó el método McMaster para cuantificar la eliminación de huevos de parásitos en las heces. Adaptando la metodología de Thienpont et al. (1986), se agregaron dos g de heces a 28 mL de una solución saturada de cloruro de sodio al 25% y se homogeneizaron con la ayuda de una varilla de vidrio.

Posteriormente, la solución se filtra a través de un colador de té sobre un vaso de precipitados. Luego, se llenan los dos compartimentos de la cámara McMaster con ayuda de una pipeta Pasteur, y se cuentan los huevos dentro de los límites de las dos rejillas o rejillas. Considerando el volumen de la cámara (0.30 mL), el número de huevos contados se multiplicó por el factor de corrección de 50.

Variables climáticas

Los datos climáticos locales se obtuvieron a través del registro de temperatura ambiente (TA; °C) y humedad relativa (HR; %) que se midieron las 24 horas del día, estos se obtuvieron a través de sensores electrónicos conectados a la estación del sistema meteorológico nacional, número de Tecpan 12233, latitud 17° 15' 00" N, longitud 100° 34 '07" W, altitud 262 MSNM en el municipio de Tecpan de Galeana, Guerrero, México. La evaluación del estrés térmico del experimento se realizó a través de los siguientes índices: Índice TA y RH (ITH) índice de temperatura y humedad: relación factores climáticos se calculó con la ecuación de Kibler (1964):

$$ITH=1.8 TA - (1-HR) Ta-14,3) + 32$$

Donde TA es la temperatura promedio (°C) y HR es la humedad relativa. El ITH se calculó de acuerdo con los registros de temperatura y HR, obtenido de promedios diarios, considerando que valores entre 71 y 79 unidades indican condición de alerta, de acuerdo con lo indicado por la organización Meteorológica Mundial (1989).

Variables fisiológicas y temperaturas de la piel

Las variables fisiológicas evaluadas fueron: frecuencia respiratoria (FB) temperatura rectal en grados Celcius (TR). La BF se midió contando el número de movimientos de la fosa paralumbar derecha; la FC se midió con un estetoscopio de una sola campana (3M™ Littmann®, Penlight; Shanghai, China) contando el número de repeticiones por minuto; la TR se midió con un termómetro digital de uso veterinario (Delta Trak®, Pleasanton, CA, EE. UU). Además, se midieron las siguientes temperaturas de la piel (utilizando un Flake 59E®):

Se tomó la temperatura de la cabeza, cuello, escápula, flanco (extremo de la última costilla), abdomen, anca, pierna, dorso y ano, para la temperatura de la piel (TP), Fotografías de cuerpo completo, de cada cordero se tomaron a una distancia de 30 cm. Las mediciones se tomaron cada tercer día de los 60 días del experimento, cuatro veces al día antes de la alimentación de la mañana 6:00 am, después de la alimentación a las 11:00 am, a las 2:00 pm antes de la alimentación de la tarde y a las 5:00 pm después de la alimentación de la tarde.

Análisis estadísticos

Experimento 1

Los datos de las variables de producción de gas ruminal in vitro se analizaron como un experimento factorial 3×4 (es decir, *C. coriaria* 3, fluidos ruminales (efecto fijo) y 4 dosis de extracto (efecto aleatorio), según diseño de bloques al azar utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (2002) utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + R_j + S_i * R_j + e_{ijk}$$

Dónde Y_{ijk} representa cada observación de la dosis cuando se incubó en el tipo de rumen, S_i = el efecto de la dosis (0, 0.6, 1.2 y 1.8 mL), R_j ($j = 0, 30$ o 60 mL de extracto acuoso alimentado a corderos) es el efecto del tipo de líquido ruminal, $S_i * R_j$ es la interacción tipo de líquido ruminal y dosis del extracto *C. coriaria*, y e_{ijk} es el error experimental.

Experimento 2.

Los datos de la evaluación biológica y fisiológica del extracto exportado de frutos de *C. coriaria* (consumo de alimento y agua, rendimiento del crecimiento, cuentas de huevos gastrointestinales y constantes fisiológicas) se analizaron con el PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc, Cary NC, USA). Se utilizó un diseño completamente al azar con medidas repetidas de dos periodos experimentales. Se consideraron dos periodos experimentales (día 1 y día 60) por tratamiento para cada variable durante los 60 días de experimentos. Para cada tratamiento (es decir, 0, 30 y 60 mL de extracto por cordero por día), se utilizaron 8 corderos en crecimiento y cada animal se utilizó como unidad experimental

La siguiente ecuación estadística:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + P_j + E_{ijk}$$

donde Y_{ij} es cada observación del j ésimo cordero asignado al i ésimo tratamiento, T_i es el efecto del tratamiento, P_j es el efecto del período y E_{ijk} es el error residual. Las comparaciones de resultados se realizaron utilizando la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Se utilizó la prueba de Tukey para las comparaciones múltiples de medias y se utilizaron contrastes polinomiales (lineales y cuadráticos) para examinar las respuestas a la dosis de extracto ante niveles crecientes de extracto de frutos de *C. coriaria* en la dieta se declaró significancia a un nivel de $P < 0.05$ y una tendencia de $P \leq 0.10$. Se consideró la correlación de Pearson entre las constantes fisiológicas.



Effects of long-term supplementation of *Caesalpinia coriaria* fruit extract on ruminal methane, carbon monoxide, and hydrogen sulfide production in sheep

Pedro Enrique Hernández Ruiz¹ · Miguel Mellado² · Moyosore Joseph Adegbeye³ · Abdelfattah Zeldan Mohamed Salem¹ · José Luis Ponce Covarrubias⁴ · Mona Mohamed Mohamed Yasseen Elghandour¹ · Oluwatosin Bode Omotoso³

Received: 5 July 2022 / Revised: 15 August 2022 / Accepted: 17 August 2022
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

Abstract

This study aimed to evaluate the long-term effect of oral administration of *Caesalpinia coriaria* Jacq (Casahuate) wild fruit extract to lambs on ruminal methane, carbon monoxide, and hydrogen sulfide production and in vitro fermentation profile. Rumen liquor (RL) was collected from lambs administered with 0- (RL0), 30- (RL30), and 60- (RL60) mL of aqueous extract of the *C. coriaria* fruit for 60 days per lamb, as well as during incubation, 0-, 0.6-, 1.2-, and 1.8- mL of *C. coriaria* fruit extract was added to each RL type. There was a dose-dependent increase in gas production with increasing levels of *C. coriaria* extract. The RL30 lambs had the lowest ($P=0.013$) methane output (g CH₄/kg DM) at 24 h, and RL30 with 1.8 mL/g DM had the lowest ($P=0.031$) CH₄ (g CH₄/kg DM) at 48 h. Furthermore, diets fermented with RL0 produced the highest ($P=0.001$) short-chain fatty acid (SCFA, mmol/g DM) and metabolizable energy (ME, MJ/kg DM 24 h), while diets incubated with RL30 produced the lowest. Without plant extract addition, 30 mL oral supplementation of *C. coriaria* fruit extract/day/lamb was optimal for digestion, ME, and SCFA. Therefore, 60 mL/d/lamb containing 1.2–1.8 mL fruit extract/g DM seemed to be a feasible means of decreasing emissions of gas production, ME, SCFA, CO, H₂S, and CH₄.

Keywords Hydrogen sulfide · Secondary metabolites · Methane gas · Ruminants · Greenhouse gas

1 Introduction

Rumen fermentation is important for the digestion and absorption of nutrients ingested by ruminants. During this process, several by-products including hydrogen sulfide (H₂S) and carbon monoxide (CO) are absorbed through the intestinal wall. The quantity of sulfide

produced by rumen microbes is influenced by the diet sulfate content [1]. CO and H₂S can also serve as therapeutic purposes and could be alternative means of hydrogen sinking [2, 3].

Meanwhile, increasing greenhouse gas emissions, such as methane (CH₄) continues to be a great concern due to their potential adverse effects on global warming [4]. This gas is produced in both the foregut and hindgut during anaerobic fermentation by methanogens. The reduction of enteric methane production enhances nutrient utilization and productivity and reduces environmental pollution. While there have been efforts to mitigate CH₄ production both in vivo and in vitro [5], additional research on plants with the capacity to reduce methane synthesis is needed. This would ensure that each country could adopt feeding practices to mitigate CH₄ production regardless of the live-stock reared.

C. coriaria, a tanniniferous tropical tree, has the potential to mitigate the enteric CH₄ production for optimum ruminant output. Pods of this tree are rich in tannin,

✉ Mona Mohamed Mohamed Yasseen Elghandour
 mmohamed@uaemex.mx

¹ Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México

² Department of Animal Nutrition, Autonomous Agrarian University Antonio Narro, Saltillo, Mexico

³ Department of Animal Production and Health, Federal University of Technology, P.M.B. 704, Akure, Nigeria

⁴ Escuela Superior de Medicina Veterinaria Y Zootecnia número 3, Universidad Autónoma de Guerrero, Tecpan de Galeana, Guerrero, México

phenols, and flavonoids. Previous studies have shown that *C. coriaria* extract reduces methane production in vitro [6, 7] apparently by creating alternative sink for H₂ and by competing and metabolizing H₂ for other uses, thereby preventing methanogens from using them for methane production [8], which improves performance and rumen fermentation in goats [9].

Despite all the above benefits, additional research on methane inhibitor additives is needed. Administration of unconventional feed additives to livestock often results in contrasting growth performance, gut manipulation, health, and greenhouse gases production. Thus, this study aims to evaluate the long-term effect of oral administration of *C. coriaria* fruit extract to lambs on reduction of ruminal CH₄, CO, and H₂S production.

2 Materials and methods

2.1 Cascalote fruit collection

For the preparation of the extract, fruits of *C. coriaria* (Jacq) wild were randomly and manually harvested from 10 trees in different zones of the State of Guerrero, Mexico, during March and April. Leaf samples were also collected and stored at room temperature (i.e., 30–35 °C) in the dark for subsequent chemical components determination, secondary metabolites, and preparation of extract for the in vitro gas production trials.

2.2 Preparation of the aqueous extract

Fruits were ground to a particle size of 1 mm using a blender and extracted at 1 g fruits/8 mL of plain water. The ground fruits were immersed in water at room temperature for 72 h in closed 5-L jars. After incubation, jars were filtered through 4–5 layers of gauze, and the extract was collected. Extracts were prepared weekly (stock volume of 8 L each); this mixture was stored at 4 °C before daily oral administration to lambs. The extract chemical composition is shown in Table 1.

2.3 Ruminant liquor

The rumen liquor (RL) was collected from lambs at the end of the experiment (800 g from two lambs per group) of three groups of lambs, each composed of 8 mixed-breed (crosses of Pelibuey, Black belly, and Criollo) male lambs (22 to 28 kg live weight). Lambs were offered a balanced diet (Table 2) twice a day, and feed intake was registered daily. The control group was fed the balanced

Table 1 Ingredients and chemical composition of experimental diets

	%
Diet ingredients	
Corn stibble	50
Soybean meal	10
Coconut paste	10
Wheat bran	10
Corn meal	19.7
Vit-mineral mixture ¹	0.33
Chemical composition	
Crude protein	16
Ether extract	2.6
Neutral detergent fiber	38
Acid detergent fiber	15.9
Organic matter	98.12
Secondary metabolites	
Total phenolics	770.4
Total flavonoid	149.1
Total condensed tannins	261.6

¹Vit-mineral mixture: sodium chloride, calcium carbonate, magnesium sulfate, iron sulfate, zinc sulfate, sodium selenite, vitamin A, vitamin D3, vitamin E, vitamin B1, iodine 130 mg/kg, animal by-products

diet; a second group received the balanced diet plus 30 mL aqueous extract of the *C. coriaria* fruit; group three was offered the balanced diet plus 60 mL of the aqueous extract of the *C. coriaria* fruit. Lambs received the aqueous extract for 60 consecutive days.

2.4 In vitro incubations

Two lambs from each animal group (i.e., 0-, 30-, or 60- mL) were slaughtered at the end of the experimental period (60 days), and immediately the rumen contents were used as inoculum for the in vitro incubation with the same diet fed to lambs during the experiment. Rumen contents of each group were mixed with the Goering and Van Soest [10] buffer solution without trypsinase at 1:4 vol/vol ratio.

The newly mixed RL was managed according to the method of Salem et al. [11] with different doses (0-, 0.6-, 1.2-, and 1.8- mL) of the *C. coriaria* extract, considering the bottles without the extracts as blanks. After filling all bottles with the substrate, extract, Goering, and Van Soest buffer solution, they were flushed with CO₂, rubber stoppered, shaken, and placed in an incubator at 39 °C.

Total gas production (psi) was recorded at different hours after incubation, starting at 2 h until 48 h following the technique of Theodorou et al. [12]. In addition, CH₄, CO, and H₂S production was measured at the same hours of incubation using a diffusion-based gas detector

Table 2 In vitro ruminal fluid gas production kinetics and total production of the incubated and degraded diets at 48 h of incubation

Ruminal liquor (RL; and dose per day per lamb (mL))	Extract dose (mL/g DM)	Gas production kinetics ^a			Gas production (mL gas/g DM incubated)			Gas production (mL gas/g DM degraded)		
		b	c	Lag	6 h	24 h	48 h	6 h	24 h	48 h
RL-0	0	153.8	0.025	9.913	66.3	116.3	154.1	692.9	1293.7	1697.1
	0.6	194.2	0.043	1.688	62.5	173.5	157.1	445.5	1270.0	1524.9
	1.2	216.1	0.045	0.204	63.4	196.0	218.0	516.8	980.5	1099.2
	1.8	226.3	0.044	0.376	61.6	202.7	231.7	280.8	856.0	977.0
	Linear	0.016	0.002	<.0001	0.3759	0.0002	0.0122	0.1306	0.593	0.4684
	Quadratic	0.2476	0.0176	<.0001	0.9034	0.0137	0.2646	0.5157	0.9113	0.7803
RL-30	0	186.3	0.039	3.799	44.9	72.7	163.0	188.8	325.5	714.5
	0.6	236.5	0.030	2.770	62.5	120.3	188.5	322.3	622.6	968.7
	1.2	218.6	0.033	1.783	59.1	170.1	215.9	271.5	777.0	993.2
	1.8	214.1	0.030	1.530	66.0	161.7	208.1	338.3	808.4	1040.1
	Linear	0.7549	0.6289	0.241	0.0392	0.0065	0.4315	0.0023	0.0006	0.1896
	Quadratic	0.811	0.9254	0.5928	0.6718	0.0366	0.5374	0.7943	0.0248	0.6253
RL-60	0	141.4	0.024	4.188	34.8	63.7	74.8	196.6	365.1	428.4
	0.6	164.3	0.047	3.572	71.0	154.2	169.5	466.3	859.1	943.0
	1.2	252.4	0.088	2.748	65.6	150.7	377.5	477.1	959.2	2404.8
	1.8	254.7	0.062	2.837	73.4	173.0	394.9	399.3	707.1	1615.2
	Linear	0.402	0.1817	0.3403	0.026	0.003	<.0001	0.446	0.0975	0.0115
	Quadratic	0.038	0.040	0.543	0.373	0.2318	0.0053	0.134	0.028	0.0012
Pooled SEM ^b		21.94	0.0083	0.8075	5.44	14.81	24.91	78.01	180.47	271.01
<i>P</i> -value										
Ruminal fluid										
Linear		0.56	0.4525	0.2925	0.3116	0.0017	0.7691	0.0966	0.04	0.190
Quadratic		0.91	0.0032	0.2549	0.9308	0.1196	0.0049	0.8967	0.4334	0.286
Extract dose										
Linear		0.031	0.1698	<.0001	0.0052	<.0001	<.0001	0.5318	0.5505	0.437
Quadratic		0.234	0.0386	0.0049	0.333	0.0019	0.005	0.9479	0.3775	0.138
Ruminal fluids extract dose		0.753	0.1849	0.002	0.124	0.757	0.000	0.1398	0.7106	0.084

^ab is the asymptotic gas production (mL/g DM); c is the rate of gas production (%/h); Lag is the initial delay before gas production begins (h)

^bSEM standard error of the mean, DM dry matter

(MONITOR de Dräger Safety X-am 20,500, Lübeck, Germany) using a 5 mL sample. After each recording, the gas was dispersed using a syringe needle to avoid gas accumulation.

2.5 Degraded substrate dry matter

At the end of the incubation period (48 h), the pH was measured according to Rodriguez et al. [13], and the residual of each bottle was filtered and rinsed. Fermentation residues were dried at 45 °C for 72 h to estimate DM degradability [10], according to [11].

2.6 Diet chemical analyses

Proximate analysis of diet samples (3 subsamples) was performed according to AOAC [14]. The fiber fractions were determined out using an ANKOM200 Fiber Analyzer Unit (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY) according

to AOAC [14], with the acid detergent fiber (ADF) and neutral detergent fiber (NDF) determined according to Rodriguez et al. [13].

2.7 Secondary metabolites of the Cascalote fruit extract

2.7.1 Determination of the total phenolic content and total condensed tannins

Total phenolic content of the extracts was determined by a colorimetric method utilizing Folin-Ciocalteu reagent [15], and the absorbance was measured at 765 nm against a reagent blank. The total phenolic content was expressed as mg of gallic acid equivalent per g. The tannin content was determined using tannic acid as a reference compound, following the method of Ayalew and Emire [16].

2.7.2 Determination of total flavonoid content

Modified AlCl_3 colorimetric method was used according to the technique of Sembiring et al. [17], and the absorbance was measured against methanol blank at 510 nm. The flavonoid was expressed as μg of quercetin equivalent per 1 g of dry extract.

2.8 Calculations

To estimate the kinetic variables of gas production (GP), CH_4 , CO, and H_2S (mL/g DM) were fitted using the NLIJN option of SAS [21] using the following model [18]:

$$A = b \times (1 - e^{-c(t-lag)})$$

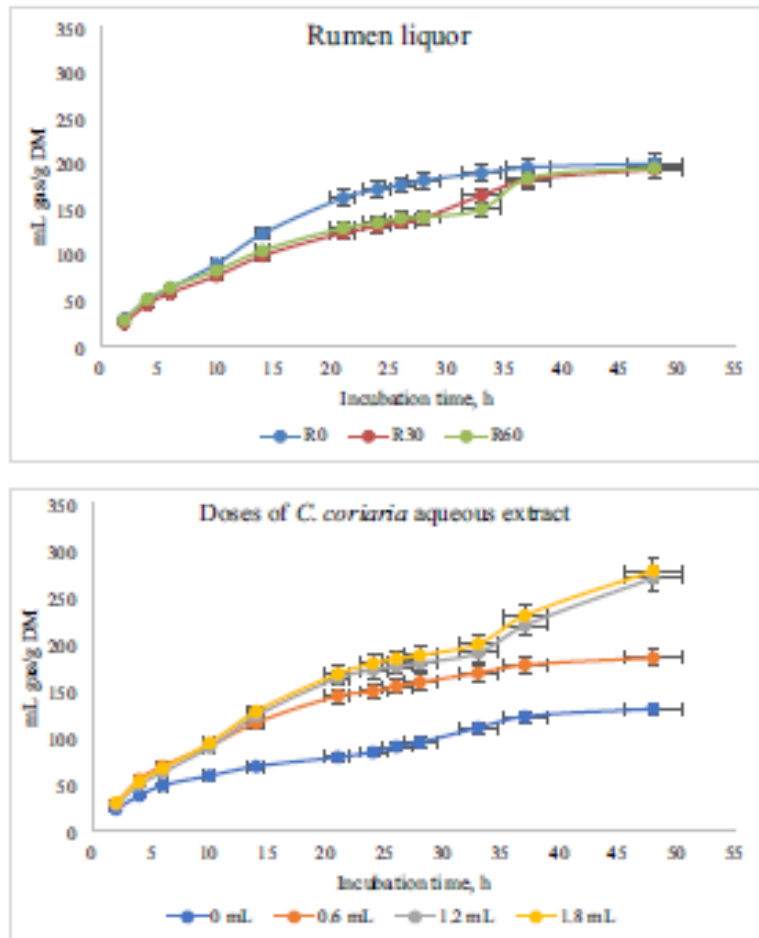
where A is the volume of GP, CH_4 , CO, and H_2S at time t ; b the asymptotic GP, CH_4 , CO, and H_2S (mL/g DM); c is the rate of GP, CH_4 , CO, and H_2S (1/h); and lag (h) is the discrete lag time before GP, CH_4 , CO, and H_2S .

Metabolizable energy (ME, MJ/kg DM) and in vitro organic matter digestibility (IVOMD, g/kg OM) were estimated according to Menke et al. [19] as:

$$ME = 2.20 + 0.136GP + 0.0057CP \left(\frac{1}{1 + e^{-x}} \right)$$

SCFA was calculated according to [20] as:

Fig. 1 Rumen total gas production (mL/g dry matter (DM)) at different hours of incubation as affected by the dietary inclusion with the aqueous extract of *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) wild fruit



$$SCFA(\text{mmol}/200\text{mg DM}) = 0.0222GP - 0.00425$$

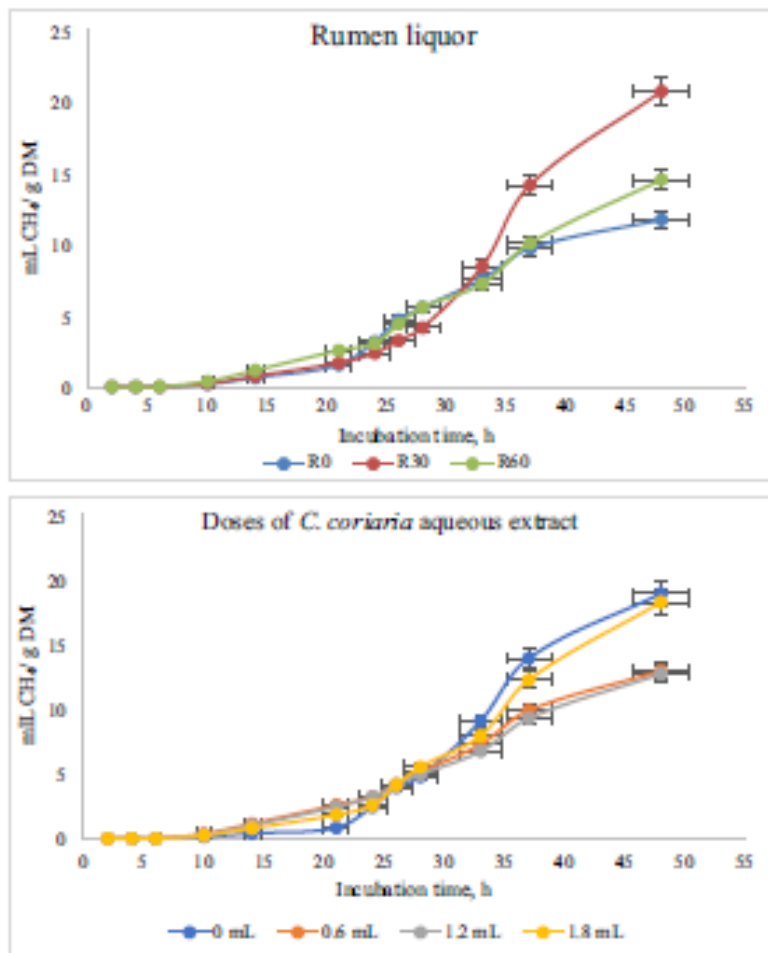
where GP is the 24-h net gas production (mL/200 mg DM).

3 Statistical analyses

Data of in vitro ruminal gas production variables were analyzed as a 3×4 factorial experiment (i.e., *C. coriaria* 3 ruminal fluids (fixed effect) and 4 extract doses (random effect)), according to a randomized block design using the PROC MIXED procedure of SAS [21] using the following statistical model:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + R_j + S_i * R_j + \epsilon_{ijk}$$

Fig. 2 Ruminal methane (CH₄) production (mL/g dry matter (DM)) at different hours of incubation as affected by the dietary inclusion with the aqueous extract of *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) wild fruit



where Y_{ijk} represents every observation of the dose when incubated in the j th rumen type, S_i —the dose effect (0, 0.6, 1.2, and 1.8 mL), R_j ($j=0, 30$, or 60-mL aqueous extract fed to lambs) is the rumen liquor type effect, $S_i * R_j$ is the interaction rumen liquor type and *C. coriaria* extract dose, and ϵ_{ijk} is the experimental error.

4 Results

4.1 Total gas production

GP (mL gas/g DM incubated and degraded) linearly increased ($P=0.002$; $P=0.04$) with increasing RL type at 24 h of incubation (Table 2, Fig. 1). In addition, doses of *C. coriaria* extract

used during incubation linearly improved ($P=0.031$) asymptotic gas production kinetics and gas production rate (V_h) ($P<0.001$).

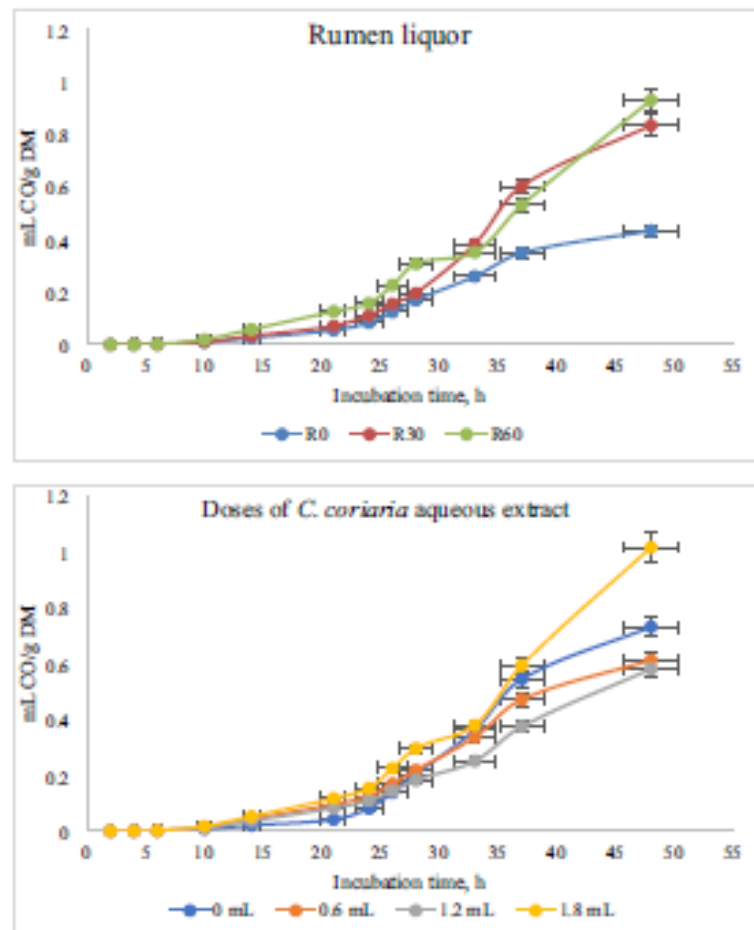
4.2 Methane production

No trend was observed for CH_4 production during the incubation period. RL30 produced the highest CH_4 , while RL0 lambs produced the least. In contrast, 0 and 1.8 mL/g DM extract of *C. coriaria* had the highest CH_4 production, while 0.6 and 1.2 mL/g DM extract had the lowest CH_4 output (Fig. 2).

Lambs of RL30 had the shortest delay of CH_4 , while RL0 had the most extended delay (Table 3). In Table 4,

RL type had a linear effect on g CH_4 /kg DM at 24 h ($P=0.013$), whereas RL30 had the lowest, while control lambs (i.e., RL0) had the highest at 24 h. Furthermore, there was a dose-dependent linear ($P<0.05$) decrease in CH_4 production (mL CH_4 /100 mL gas; mg CH_4 /mL gas) at 24 and 48 h of incubation (Table 4). The RL \times *C. coriaria* extract dose showed that when measured as CH_4 (g CH_4 /kg DM), RL0, 1.8 mL/g DM had the lowest CH_4 production at 24 and 48 h; RL30, 0 mL/g DM had the lowest ($P=0.0002$) CH_4 production at 24 h, while 1.8 mL/g DM had the lowest ($P=0.031$) at 48 h of incubation (Table 4, Fig. 2).

Fig. 3 Rumen carbon monoxide (CO) production (mL/g dry matter (DM)) at different hours of incubation as affected by the dietary inclusion with the aqueous extract of *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) wild fruit



4.3 Carbon monoxide (CO) and hydrogen sulfide (H₂S)

Table 5 and Fig. 3 showed that RL type and doses had no linear effect on CO production kinetics (mL/g DM incubated) and CO production (mL/g DM degraded) at 24 and 48 h of incubation. However, RL type \times dosage affected CO production (mL/g DM incubated) at 24 ($P=0.028$) and 48 h ($P=0.018$) of incubation.

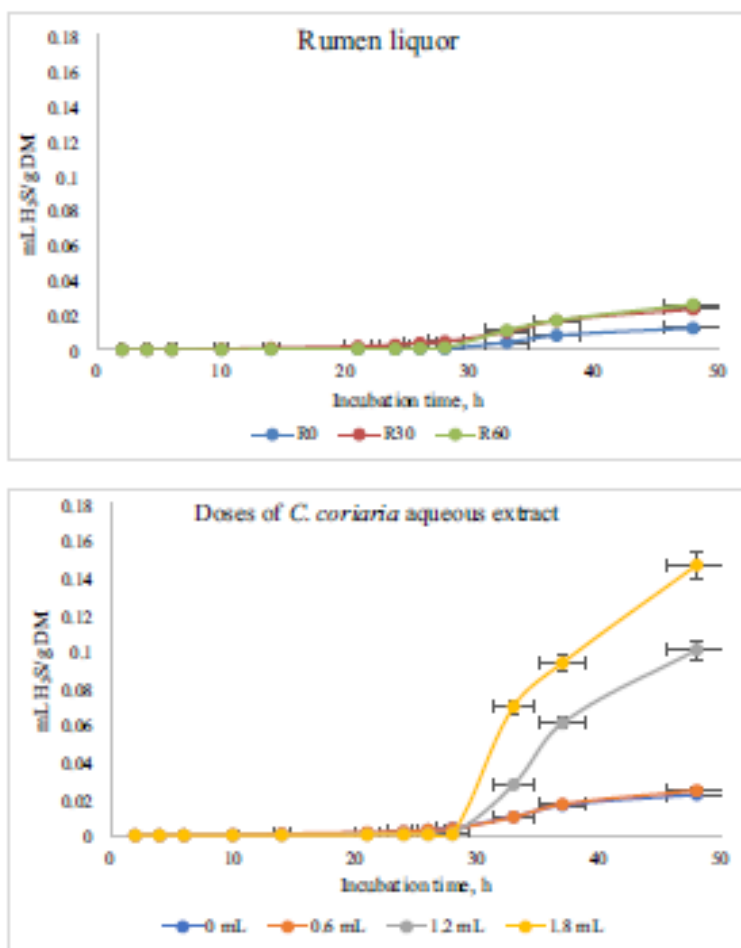
Table 6 and Fig. 4 showed that extract dose ($P=0.004$), rumen type \times extract dose ($P<0.001$) affected the H₂S production rate. Dose 1.8 mL/g DM had the highest H₂S production, while 0.6 mL/g DM produced the lowest. RL0 and RL30, in combination with 1.2 and 1.8 mL/g DM, produced the lowest H₂S, while RL60, 0.6 mL/g DM, had the slowest gas production rate. Lambs

of RL0 produced the lowest H₂S (mL/g degraded DM) at 24 h, and RL30 lambs produced the highest. Dose level of *C. coriaria* extract had a linear effect where H₂S decreased with the increasing dose of the extract in 24 h ($P=0.030$); the reverse occurred in 48 h ($P<0.0001$). The ruminal fluid: dose of *C. coriaria* extract showed that at 48 h, 1.8 mL/g DM had the lowest ($P=0.0001$) H₂S production in RL0 and RL30, whereas, in RL60 lambs, the inverse occurred, and 0 mL/g DM produced the lowest.

4.4 Fermentation profile

Table 7 shows the rumen fermentation profile and CH₄ conversion efficiency of diet after in vitro digestibility. Diets fermented with RL0 produced the highest SCFA

Fig. 4 Rumen hydrogen sulfide (H₂S) production (mL/g dry matter (DM)) at different hours of incubation as affected by the dietary inclusion with the aqueous extract of *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) wild fruit



($P = 0.001$) and ME (MJ/kg DM at 24 h) ($P = 0.001$), while diets incubated with RL30 produced the lowest. Furthermore, there was a linear ($P < 0.001$) and quadratic ($P = 0.002$) dose-dependent increase in SCFA and ME. The CH_4 :ME and CH_4 :OM showed that diets fermented with RL0 produced the highest CH_4 level for every unit of ME, while RL30 produced the lowest. The CH_4 to SCFA ratio showed that for every increase in *C. coxii* extract, less ($P < 0.001$) CH_4 was produced per SCFA.

Rumen fluid type \times dose of *C. coxii* extract showed that with RL0, the decrease in CH_4 to ME ratio, OM, and SCFA ratio, there was a dose-dependent decrease in CH_4 with increasing *C. coxii* extract. Moreover, RL60 and RL30 generated the lowest CH_4 output per ME and

OM, while 0.6 mL/g DM generated more CH_4 . Similarly, 1.8 mL/g DM produced the lowest ($P = 0.0003$) CH_4 per SCFA, while 0.6 mL/g DM produced the highest.

5 Discussion

5.1 Gas production

Phylogenetic additives manipulate rumen fermentation due to their secondary metabolites which may improve nutrient digestion and availability [22]. It has been reported that some phenolic compounds stimulate the growth of microbial communities [23]. *C. coxii* extract increased GP kinetics and

Table 3 In vitro ruminal fluid methane production kinetics and total production of the incubated and degraded diet at 48 h of incubation

Ruminal liquor (RL; oral dose per day per lamb (mL))	Extract dose (mL/g DM)	CH_4 production kinetics ¹			CH_4 production (mL gas/g DM incubated) ²		CH_4 production (mL gas/g DM degraded) ²	
		b	c	Lag	24 h	48 h	24 h	48 h
RL0	0	36.25	0.202	21.519	4.59	22.24	49.13	73.95
	0.6	43.16	0.035	12.732	2.86	8.74	20.96	38.67
	1.2	47.24	0.030	14.446	2.99	10.20	14.95	51.85
	1.8	23.26	0.084	17.163	2.18	5.73	9.20	24.19
	Linear	0.1304	0.1549	0.0091	0.0002	0.0654	0.0516	0.0145
	Quadratic	0.0307	0.1884	0.0022	0.25	0.5879	0.375	0.8461
RL30	0	23.92	0.034	22.980	1.20	29.95	5.80	28.72
	0.6	33.29	0.035	17.524	2.64	18.92	13.73	37.05
	1.2	34.07	0.034	14.755	3.42	12.91	15.99	60.22
	1.8	30.32	0.032	11.647	2.14	21.15	10.93	31.75
	Linear	0.5809	0.824	0.0276	0.1139	0.6298	0.1021	0.8133
	Quadratic	0.4914	0.8421	0.2032	0.0051	0.43	0.0171	0.0233
RL60	0	59.35	0.034	12.736	1.52	4.39	8.65	24.82
	0.6	64.66	0.037	11.470	4.13	11.04	22.57	60.09
	1.2	39.81	0.047	11.513	3.18	14.96	20.37	86.82
	1.8	69.59	0.080	18.804	3.36	27.74	13.71	80.67
	Linear	0.5544	0.0326	0.0055	0.0568	0.0047	0.3036	0.0013
	Quadratic	0.1349	0.5677	0.0159	0.3318	0.8367	0.0503	0.0093
SEM pooled ³		7.894	0.0169	1.5237	0.370	6.032	4.626	7.695
<i>P</i> -value								
Ruminal fluid								
Linear		0.2637	0.0139	0.8484	0.0134	0.1341	0.0316	0.2621
Quadratic		0.0001	0.4877	0.0184	0.2731	0.7389	0.7849	0.0024
Extract dose								
Linear		0.8656	0.3528	0.0513	0.7318	0.9231	0.1171	0.6995
Quadratic		0.9902	0.1453	0.0082	0.0308	0.3242	0.8902	0.0029
Ruminal fluid \times extract dose		0.1518	0.0772	0.0049	0.0002	0.3262	0.0308	0.0007

¹b is the asymptotic CH_4 production (mL/g DM); c is the rate of CH_4 production (1/h); Lag is the initial delay before CH_4 production begins (h)

²Values of CH_4 production at 6 h (mL CH_4 /g DM incubated and mL gas/g DM degraded) were zero

³SEM standard error of the mean, DM dry matter

decreased the lag time. This outcome disagrees with Campos-Perez et al. [6], who observed that higher condensed tannin concentrations from *C. coriaria* decreased biogases production. Despite the condensed tannin present in the extract used in the present study, the increased gas production in the current study may be associated with a high level of phenols and flavonoids of the *C. coriaria* fruit, which may have stimulated the growth of a particular microbial community. Besides, the short lag time suggests that the phenol and flavonoid helped microbes to easily adapt to the diet, and fermentation rapidly began. This view is further supported by the interaction of RL type and dose of *C. coriaria* extract, where the groups with the highest dose of *C. coriaria* extract had the shortest lag time, while those with no extract had the longest lag time, indicating that the absence of *C. coriaria* extract prolonged the microbe adaptation to the diet. This suggests that the inclusion

of *C. coriaria* extract enhances ruminal fermentation, benefiting ruminants receiving this diet.

However, when gas production was measured per dry matter incubated and digested, lambs fed *C. coriaria* had the lowest gas production. This indicates that long-term in vivo use of *C. coriaria* extract altered the rumen fermentation pattern. Furthermore, Manuel-Pablo et al. [6] showed that *C. coriaria* fruit offered to goats reduced the population of some rumen microbes. This suggests that prolonged use of *C. coriaria* fruit at higher dose affected the rumen microbial population without affecting goat growth. It is, however, interesting that when *C. coriaria* fruit extract was added in vitro, the gas production improved compared with RL without *C. coriaria* fruit extract at 24 and 48 h of incubation. This implies that the phenolic and flavonoid compounds of the *C. coriaria* fruit extract exerts a "restorative/booster"

Table 4 In vitro ruminal fluid methane proportions¹ of incubated and degraded diet at 48 h of incubation

Ruminal liquor (RL) oral dose per day per lamb (ml.)	Extract dose (ml./g DM)	CH ₄ (ml. CH ₄ /100 ml. gas)		CH ₄ (mg CH ₄ /ml. gas)		CH ₄ (g CH ₄ /kg DM)		
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	
RL0	0	39.50	47.83	1.98	6.59	21.35	70.08	
	0.6	16.50	43.33	0.83	2.17	13.31	40.63	
	1.2	15.25	46.42	0.76	2.32	13.90	47.44	
	1.8	10.75	24.75	0.54	1.24	10.13	26.65	
	Linear	< .0001	0.0102	< .0001	0.0109	0.0002	0.02	
	Quadratic	< .0001	0.1293	< .0001	0.2896	0.25	0.945	
RL30	0	17.33	124.67	0.87	4.57	5.57	72.60	
	0.6	21.42	84.25	1.07	4.21	12.28	87.97	
	1.2	30.08	59.92	1.00	3.00	15.88	60.02	
	1.8	13.50	30.67	0.68	1.97	9.93	31.68	
	Linear	0.2612	0.0957	0.2612	0.1086	0.1139	0.3343	
	Quadratic	0.1276	0.6913	0.1276	0.8335	0.0051	0.825	
RL60	0	21.75	59.58	1.09	2.98	7.06	20.43	
	0.6	29.25	69.42	1.46	3.47	19.22	51.35	
	1.2	21.42	39.41	1.07	1.97	14.77	69.55	
	1.8	19.50	31.32	0.98	3.40	15.61	95.67	
	Linear	0.7472	0.1154	0.7472	0.6228	0.0568	0.0002	
	Quadratic	0.8955	0.6745	0.8955	0.1252	0.3318	0.2828	
Pooled SEM ²		2.078	13.930	0.104	0.725	1.721	12.376	
<i>P</i> -value								
Ruminal fluid								
Linear			0.2723	0.0337	0.2723	0.5996	0.0134	0.1977
Quadratic			0.0593	0.5299	0.0593	0.607	0.273	0.6793
Extract dose								
Linear			< .0001	0.011	< .0001	0.0034	0.7318	0.8379
Quadratic			0.3002	0.7674	0.5002	0.1379	0.0303	0.6333
Ruminal fluid x Extract dose			0.0003	0.6346	0.0003	0.0943	0.0002	0.0006

¹Values of CH₄ production at 6 h (ml. CH₄/100 ml. gas, mg CH₄/ml. gas, and g CH₄/kg DM) were zero

²SEM standard error of the mean. DM dry matter

activity on rumen microbes, increasing their fermentative activities.

5.2 Rumen methane production

Lambs with RL given *C. coriaria* had the highest CH₄ production. However, when CH₄ was measured per gram of DM incubated or digested, *C. coriaria* decreased CH₄ output for every gram of incubated and digested feed. The decreased CH₄ production can be attributed to the tannin content of this plant, which exhibited antimethanogenic activity. Campos-Perez et al. [6] reported that *C. coriaria* fruit can reduce CH₄ output by creating an alternative form of H₂ sink/utilization preventing methanogens from using H₂. In the present study, the alternative form of hydrogen sink could be

the sulfide-reducing bacteria (SRB). This is because there is an interactive and competitive relationship between methanogens and sulfide-reducing bacteria. This bacterial species can also competitively attach to hydrogen ions since the energy provided by the sulfates is greater. Besides, the incubation temperature and rumen temperature (37 °C) favor the sulfur-reducing bacteria, which dominate methanogen for hydrogen use [24]. Therefore, if sulfate levels exceed a particular concentration in the rumen, the sulfate-reducing bacteria proliferates, creating alternative hydrogen sink and decreasing CH₄ production [25, 26].

Manuel-Pablo et al. [9] reported the reduction of rumen protozoa in goats fed *C. coriaria* fruit. This suggests that the *C. coriaria* antimethanogenic activity reduced CH₄ through creation of an alternative sink for H₂ or the decrease in

Table 5 In vitro ruminal fluid carbon monoxide (CO) production kinetics and total production of the incubated and degraded diet at 48 h of incubation

Ruminal liquor (RL; oral dose per day per lamb (mL))	Extract dose (mL/g DM)	CO production kinetics ¹			CO production (mL/g DM incubated)			CO production (mL/g DM degraded)		
		b (ppm)	c	Lag	6 h	24 h	48 h	6 h	24 h	48 h
RL0	0	4943.6	0.045	8.881	0.001	0.154	0.925	0.010	2.348	13.634
	0.6	9102.4	0.020	3.801	0.001	0.047	0.297	0.009	0.633	3.035
	1.2	2988.4	0.028	2.336	0.002	0.077	0.313	0.010	0.423	1.676
	1.8	938.0	0.040	2.696	0.002	0.058	0.203	0.009	0.245	0.842
	Linear	0.4372	0.6136	0.0006	0.0143	0.3707	0.203	0.8302	0.2215	0.1836
	Quadratic	0.9913	0.1338	0.0077	0.1542	0.7534	0.594	0.8526	0.5426	0.4858
RL30	0	4583	0.0338	5.0986	0.001	0.066	1.105	0.003	0.311	4.774
	0.6	5326	0.0359	7.4992	0.001	0.148	0.955	0.006	0.763	4.893
	1.2	2918	0.0271	6.7644	0.001	0.112	0.523	0.007	0.519	2.470
	1.8	1550	0.0337	3.8808	0.001	0.121	0.761	0.006	0.618	4.231
	Linear	0.2391	0.982	0.6115	0.1108	0.0469	0.5679	0.0807	0.0493	0.8517
	Quadratic	0.9443	0.213	0.3582	0.0362	0.3894	0.4356	0.0651	0.6472	0.428
RL60	0	3404.4	0.035	5.396	0.001	0.025	0.162	0.003	0.133	0.906
	0.6	3449.8	0.039	3.924	0.002	0.183	0.584	0.011	0.991	3.211
	1.2	2193.1	0.064	5.235	0.002	0.140	0.903	0.012	0.894	5.739
	1.8	5394.2	0.035	4.055	0.003	0.284	2.081	0.012	1.165	8.524
	Linear	0.0564	1	0.6201	0.0025	0.0003	0.0001	0.0321	0.0012	0.0002
	Quadratic	0.0213	0.1099	0.8269	0.7158	0.7024	0.3771	0.1445	0.2152	0.3602
Pooled SEM ²		1582.99	0.0068	1.3791	0.0002	0.0331	0.2594	0.0021	0.3343	2.1540
P-value										
Ruminal fluid										
Linear		0.5779	0.947	0.2731	0.0314	0.4049	0.1038	0.033	0.4451	0.7953
Quadratic		0.7563	0.076	0.674	0.0034	0.0418	0.1618	0.1482	0.8757	0.9489
Extract dose										
Linear		0.3696	0.819	0.0346	< .0001	0.0633	0.3104	0.1154	0.6382	0.5448
Quadratic		0.6337	0.6309	0.8833	0.0585	0.8019	0.2292	0.1593	0.6832	0.423
Ruminal fluid×extract dose		0.5028	0.1239	0.213	0.0529	0.0283	0.0175	0.595	0.2906	0.2394

¹b is the asymptotic carbon monoxide (CO) production (ppm); c is the rate of carbon monoxide (CO) production (h); Lag is the initial delay before carbon monoxide (CO) production begins (h)

²SEM standard error of the mean. DM dry matter

protozoa which reduced the hydrogen exchange relationship with methanogens [6]. Despite the apparent tendency of *C. coriaria* to reduce CH₄ production, care must be taken to use the right combination.

Lambs of RL30 had the lowest CH₄ output, while a dose level of 1.8 mL/g DM had the lowest level with similar CH₄ production between RL0 and RL60 lambs. This condition suggests that the action of phenols and flavonoids of *C. coriaria* could have neutralized the antimethanogenic activity of tannins at a higher level to the extent that it would be not different or even produce more CH₄ than the unsupplemented groups. This indicates that a balance is needed to use the right

combination of *C. coriaria* fruit to avoid an antimethanogenic neutralization effect. This earlier submission can be observed in Table 4, where RL60 with CC extract began to increase CH₄ output per DM incubated even higher than the control. This is similar to what was observed in the in vitro report of Jack [27] for the percentage of CH₄ per total gas volume, using RL from rams fed water washed neem, where RL with the highest water washed neem produced the highest CH₄ production, while the lower water washed neem produced the lowest. Nonetheless, the advantage of reducing CH₄ production per gram DM degraded is that, if fed to ruminants, it could reduce CH₄ emitted.

Table 6 In vitro ruminal fluid hydrogen sulfide (H₂S) production kinetics and total production of the incubated and degraded diet at 48 h of incubation

Ruminal liquor (RL; oral dose per day per lamb (mL))	Extract dose (mL/g DM)	H ₂ S production kinetical			H ₂ S production (mL/g DM incubated)			H ₂ S production (mL/g DM degraded)		
		b (ppm)	c	Lag	6 h	24 h	48 h	6 h	24 h	48 h
RL0	0	668.3	0.041	5.390	0.00000	0.00037	0.01870	0.00000	0.00453	0.15080
	0.6	1014.5	0.020	4.681	0.00000	0.00027	0.02547	0.00003	0.00197	0.12117
	1.2	382.9	0.007	7.800	0.00000	0.00037	0.00320	0.00013	0.00177	0.01800
	1.8	343.4	0.006	6.509	0.00003	0.00033	0.00240	0.00013	0.00140	0.01013
	Linear	0.5175	0.0263	0.7337	0.195	0.7328	0.2023	0.0961	0.1283	0.0075
	Quadratic	0.7748	0.1615	0.5202	0.4379	0.8434	0.4901	0.308	0.4747	0.0968
RL30	0	387.0	0.052	5.886	0.00000	0.00487	0.03917	0.00013	0.02630	0.21277
	0.6	1159.0	0.034	6.609	0.00003	0.00520	0.03573	0.00020	0.02630	0.18453
	1.2	1951.9	0.011	9.714	0.00000	0.00067	0.01153	0.00007	0.00297	0.05283
	1.8	673.9	0.013	9.276	0.00000	0.00040	0.00653	0.00000	0.00193	0.03587
	Linear	0.8063	0.0286	0.1236	1.0000	0.0503	0.0339	0.0353	0.0947	0.0888
	Quadratic	0.1851	0.1295	0.2464	1.0000	0.2755	0.3362	1.0000	0.346	0.3926
RL60	0	271.2	0.0335	8.3293	0.00000	0.00050	0.00873	0.00010	0.00267	0.04963
	0.6	868.0	0.0169	5.2345	0.00003	0.00083	0.01173	0.00030	0.00453	0.06403
	1.2	748.1	0.1584	3.4743	0.00000	0.00027	0.28747	0.00007	0.00177	1.83070
	1.8	1817.3	0.1738	3.4687	0.00000	0.00037	0.73097	0.00003	0.00157	2.99663
	Linear	0.0123	<.0001	0.0064	1.0000	0.7308	0.0001	0.6811	0.5706	0.0003
	Quadratic	0.497	<.0001	0.0682	1.0000	0.6209	0.3993	1.0000	0.8335	0.4931
Pooled SEM ²		395.18	0.00681	1.39322	0.0000083	0.0004332	0.02000	0.000053	0.0028	0.0101
P-value										
Ruminal fluid										
Linear		0.2589	0.1597	0.134	1.0000	0.0003	0.7327	0.6339	0.0043	0.7498
Quadratic		0.7564	<.0001	0.0735	1.0000	0.0413	<.0001	0.4116	0.0917	<.0001
Extract dose										
Linear		0.2645	0.0043	0.9301	0.4222	0.0278	<.0001	0.7136	0.0393	<.0001
Quadratic		0.3893	0.3804	0.6541	0.6416	0.2286	0.2918	0.6719	0.2748	0.6979
Ruminal fluid×extract dose		0.2979	<.0001	0.1364	0.5184	0.0174	<.0001	0.174	0.1199	<.0001

¹b is the asymptotic hydrogen sulfide (H₂S) production (ppm); c is the rate of hydrogen sulfide (H₂S) production (h); Lag is the initial delay before hydrogen sulfide (H₂S) production begins (h)

²SEM standard error of the mean. DM dry matter

Table 7 In vitro ruminal fluid fermentation profile¹ and methane conversion efficiency of the incubated diet

Ruminal liquor (RL); oral dose per day per lamb (mL)	Extract dose (mL/g DM)	Ruminal fermentation profile				Methane conversion efficiency		
		ruminal pH	DMD (%)	SCFA ¹ (mmol/g DM)	ME (MJ/kg DM 24 h)	CH ₄ : ME (g/MJ)	CH ₄ : OM (mL/g)	CH ₄ : SCFA at 24 h (mmol/mmol)
RL0	0	6.517	24.463	2.560	5.293	4.019	5.102	51.981
	0.6	6.453	54.897	3.831	5.946	2.233	3.181	21.652
	1.2	6.470	40.468	4.329	6.202	2.239	3.320	19.998
	1.8	6.670	47.491	4.479	6.279	1.614	2.421	14.095
	Linear	0.171	0.1994	0.0002	0.0002	< .0001	0.0002	< .0001
	Quadratic	0.2	0.7808	0.0157	0.0157	0.0198	0.25	< .0001
RL30	0	6.587	46.572	1.592	4.797	1.160	1.332	22.964
	0.6	6.623	38.811	2.650	5.340	2.274	2.935	28.172
	1.2	6.637	43.599	3.755	5.907	2.675	3.795	26.359
	1.8	6.200	40.106	3.568	5.811	1.707	2.374	17.728
	Linear	0.07	0.4993	0.0065	0.0065	0.191	0.1139	0.2476
	Quadratic	0.1673	0.9747	0.0366	0.0366	0.0057	0.0051	0.1367
RL60	0	6.310	35.091	1.394	4.695	1.416	1.686	28.935
	0.6	6.170	36.808	3.403	5.726	3.420	4.593	38.437
	1.2	6.363	31.402	3.324	5.686	2.608	3.529	28.129
	1.8	6.067	49.064	3.820	5.941	2.624	3.729	25.590
	Linear	0.0614	< .0001	0.0053	0.0053	0.1391	0.0568	0.7154
	Quadratic	0.1087	0.0001	0.2318	0.2318	0.3827	0.3319	0.9128
Pooled SEM ²		0.0912	4.8449	0.3288	0.1688	0.2857	0.4113	2.7359
P-value								
Ruminal fluid								
Linear		0.8205	0.9361	0.0017	0.0017	0.0302	0.0134	0.2801
Quadratic		< .0001	0.4049	0.1196	0.1196	0.2101	0.273	0.0567
Extract dose								
Linear		0.0577	0.1195	< .0001	< .0001	0.457	0.7318	< .0001
Quadratic		0.1671	0.7208	0.0019	0.0019	0.3059	0.0303	0.4749
Ruminal fluid:extract dose		0.0354	0.2298	0.7564	0.7565	< .0001	0.0002	0.0003

¹SCFA short-chain fatty acids (mmol/g DM), DMD in vitro dry matter digestibility (%), ME metabolizable energy (MJ/kg DM)

²SEM standard error of the mean, DM dry matter

5.3 CO and H₂S production

An imbalance between oxidants and antioxidants causes oxidative stress. This stress could be induced by the constant contact with ingested materials and microbial pathogens. H₂S and CO are endogenous gaseous mediators implicated in gut function [2]. However, CO and H₂S protect the gut against inflammation and serve as antioxidant enzyme to adapt to stress. Endogenous CO can initiate a compensatory expression of antioxidant enzymes and other adaptations to oxidative stress [3]. The higher CO and H₂S in the rumen of *C. coriaria*-fed lambs suggests that the gut is protected against inflammation or irritation due to ingestion of unconventional feed ingredient or

additives. It also suggests that the prevention of gastrointestinal inflammation will aid the absorption of nutrients by the rumen and intestine and limit the compromise of tight junctions of the gut. In addition, CH₄ formation is also driven by reactive oxygen species across all living organisms, and these respond to inducer of oxidative stress by enhanced CH₄ formation [28]. This suggests that CO and H₂S ability serve as antioxidant enzyme which could be a factor in reducing CH₄ in this study. Thus, supplementation of *C. coriaria* extract has the potential to protect the gut from oxidative stress, hence offering a therapeutic function and improving the antioxidative status of the gastric mucosa [29], as well as indirectly reducing CH₄ production.

5.4 Rumen fermentation profile

Adequate ruminal pH is required for rumen health and microbial proliferation. For optimal microbial stability, pH should range between 6.0 and 6.8 [30]. In the present study, pH after incubation was optimal for microbial function. The SCFA level indicates energy availability and can provide about 80% of livestock's daily energy requirement [31, 32]. The lower SCFA in RL types of lambs given *C. coriaria* fruit indicates the effect of tannin present in the fruit, which, when given for a prolonged time, might have affected the rumen microbes compared with the control lambs. Nevertheless, the *C. coriaria* extract had a dose-dependent increase in SCFA concentration. This suggests that phenols had a stimulatory effect on the microbes to aid feed fermentation and SCFA production. The predominance of SCFA could be ascribed to increased proportion of volatile fatty acids [22] and could enhance milk production [33]. The increased ME indicates the availability of energy which will be useful for microbial protein production [34], and the ME also followed the pattern of SCFA production.

The CH₄ conversion efficiency ratio showed that the RL type of lambs ingesting the higher *C. coriaria* fruit extract was more efficient in producing CH₄ as they had the lowest value. This attests to the anti-methanogenic properties of *C. coriaria* fruit extract.

6 Conclusion

Rumen liquor of lambs orally administered with 60 mL of *C. coriaria* fruit extract and 1.2–1.8 mL/g DM resulted in the best antimethanogenic activity and reduced CO and H₂S, reduced total gas production, and had better ME and SCFA. However, without adding extra fruit extract, 30 mL/day/lamb oral supplementation is optimal for digestion, ME, and SCFA production. Therefore, oral supplementation with 60 mL/day/lamb of fruit extract is optimal for rumen fermentation and methane reduction. The results on antimethanogenic activity of *C. coriaria* secondary metabolites indicated their potential as feed additives for decreasing the enteric CH₄ emission, which is important for the sustainable development of ruminant production.

Author contribution PH, MM, MMMYG, and AZMS conceived and designed the experiment; PH, MMMYG, and AZMS conducted the experiment; PH, MM, MMMYG, AZMS, MJA, and OBO prepared the manuscript. All authors approved of the manuscript.

Data availability Not applicable.

Code availability Not applicable.

Declarations

Ethics approval Animal studies have been approved by the ethical committee. The research was performed in accordance with the ethical standard laid down in the 1996 Declaration of Helsinki and its later amendments.

Consent to participate All authors agree to participate in the current work.

Consent for publication All authors agree to publish the findings of the current research.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

1. Pal VK, Bandyopadhyay P, Singh A (2018) Hydrogen sulfide in physiology and pathogenesis of bacteria and viruses. IUBMB Life 70:393–410
2. Collieran E, Finnegan S, Lens P (1995) Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. Antonie van Leeuw 67:29–46
3. Dzwonowski M, Boite DC, Loy DD, Hansen SL, Erskay SM (2011) Factors affecting ruminal hydrogen sulfide concentration of cattle. Anim Ind Rep 657:11
4. Forabonco F, Chicheyan Z, Martovani R (2017) Methane, nitrous oxide emissions and mitigation strategies for livestock in developing countries: a review. S Afr J Anim Sci 47:268–280
5. Jack AA, Ogheniyemi O, Akewumi MK, Osojola AB, Adegbeye MJ, Faniyi TO, Salem AZM, Elghandour M, Cuevas-Barragan CE, Pilego-Barbazona A, Ekanem DE (2022) Conversion of neem fruit biomass for rumen manipulation, meat fatty acid profile improvement of rats. Biom Conv Bioref. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02629-4>
6. Cuevas-Pérez A, Camacho-Díaz LM, Adegbeye MJ, Elghandour MMY, Cipriano-Salazar M, Olivares-Pérez J, Rojas-Hernández S, Salem AZM (2021) Valorization of *Cassia-pinnatifida* fruit waste to enhance the ruminal mitigation of greenhouse gases production. Waste Biomass Valor. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01361-w>
7. Acosta J, Elghandour MMY, Marín-Correa-Berastain M, Adegbeye MJ, Fajemisin AN, Pilego AB, Salem AZM (2022) Effect of mid-term oral administration of *Cassia-pinnatifida* extract on the sustainable mitigation of equine fecal methane, carbon monoxide and hydrogen sulphide production. J Equine Vet Sci 115:104021
8. Reddish MA, Kung L (2007) The effect of feeding a dry enzyme mixture with fibrolytic activity on the performance of lactating cows and digestibility of a diet for sheep. J Dairy Sci 90:4724–4729
9. Manuel-Pablo A, Elghandour MMY, Olivares-Pérez J, Rojas-Hernández S, Cipriano-Salazar M, Cruz-Lagunas B, Camacho-Díaz LM (2020) Productive performance, rumen fermentation and carcass yield of goats supplemented with casahuate fruit (*Cassia-pinnatifida* J. Wild.). Agrotech Syst 94:1381–1391
10. Goering MK, Van Soest BJ (1970) Forage analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC, USA: Agricultural Research Service, USDA; 1970.
11. Salem AZM, Valdez NT, Olatidehan GA, Elghandour MMY (2017) Influence of agave meal (*Agave schottlandii*) as a natural feed additive on rumen fermentation kinetics of some forage species in horse feeding. J Equine Vet Sci 48:103–112

12. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France JA (1994) Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant foods. *Anim Food Sci Technol* 48:185–197
13. Rodriguez MP, Mariacuruma MD, Mariacuruma MA, Lagunas BC, Elghandour MMY, Kholif AM, Kholif AE, Almaraz EM, Salem AZM (2015) Influence of live cells or cells extract of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro gas production of a total mixed ration. *Ital J Anim Sci* 14:500
14. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1997) Official methods of analysis. 16th ed. Arlington, VA, USA
15. Odhamou P, Ojorinde S, Egbuchien M (2015) Polyphenolic content of some instant tea brands and their anti-oxidant activities. *J Appl Pharm Sci* 5:100–105
16. Ayalew GM, Entse SA (2020) Formulation and characterization of fruit leather based on L. fruit and flour. *J Food Process Preserv* 44:e14284
17. Sembiring EN, Eliya B, Saizuanari R (2018) Phytochemical screening, total flavonoid, and total phenol content and antioxidant activity of different parts of *Casualpinia bonduca*. *Pharmacognosy J* 10:2018
18. France J, Dijkstra J, Dhanoa MS, López S, Bannink A (2000) Estimating the extent of degradation of ruminant foods from a description of their gas production profiles observed in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. *Br J Nutr* 83:143–150
19. Menke KH, Raab L, Sakowski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W (1979) The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J Agric Sci* 93:217–222
20. Gutachew G, Makkar HPS, Becker K (2002) Tropical browse: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *J Agric Sci* 139:341–352
21. SAS (2002) User's guide: statistics, version 9.0. Cary, NC: SAS Institute; 2002
22. Faniyi TO, Adesunmi MK, Jack MK, Adegbeye MJ, Elghandour M, Barbabosa-Pilgo SAZM (2021) Extracts of herbs and spices as feed additives mitigate ruminal methane production and improve fermentation characteristics in West African Dwarf sheep. *Trop Anim Health Prod* 53:312. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02751-x>
23. Tzouris X, Vukovic J, Kuhle GG, George T, Leonsczak J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spenser JP (2008) Fibraoxol monomer-induced changes to the human fecal microflora. *Br J Nutr* 99:782–792
24. Collier S, Pender S (2002) Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of sulphate-containing wastewaters. *Water Sci Technol* 45:231–235
25. Bryant MP, Campbell LL, Ruddy CA, Crabbil MR (1977) Growth of *Desulfotribio* in lactate or ethanol media low in sulfate in association with H_2 -utilizing methanogenic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 33:1162–1169
26. Shah AM, Ma J, Wang Z, Hu R, Wang X, Peng Q, Amezor FK, Gouwami N (2020) Production of hydrogen sulfide by fermentation in rumen and its impact on health and production of animals. *Processes* 8(9):1169. <https://doi.org/10.3390/pr8091169>
27. Jack AA (2019) Effect of water-washing on chemical composition and in vitro biogas production of West African dwarf rams offered diets containing water-washed ruminant (*Aradimochia indica*) fruit. *Nig J Agric Food Environ* 15:43–52
28. Ernst L, Szinkfeld B, Banyou KT, Karth M, Grimm D, Dick TP, Rebelein JG, Bischofs IB, Keppler F (2022) Methane formation driven by reactive oxygen species across all living organisms. *Nature* 603:482–487
29. Wang Y, Branicky R, Nuo A, Hekimi S (2018) Superoxide dismutases: dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol* 217:1915–1928
30. Osoanya TO, Odebolu OT, Shuaib-Rahim A (2013) Intake, nutrient digestibility, and rumen ecology of West African Dwarf sheep fed palm kernel oil and wheat offal supplemented diets. *Int J Agric Sci* 3:380–386
31. Fellner V (2004) Rumen microbes and nutrient management. North Carolina State University, Animal Science Department report
32. Rodriguez GB, Carrson DA, Elghandour MMY, Salem AZM, Soto HR, Sanchez RR, Adegbeye MJ (2022) Sustainable use of sodium butyrate as a source of bioactive additive: impact on calf growth performance, rumen fermentation characteristics and microbial count. *Biomass Conv Bioref* 1–7. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02707-7>
33. Kholif AE, Gouda GA, Morsy TA, Patra AK (2022) The effects of replacement of berseem hay in total mixed rations with date palm leaves ensiled with malic or lactic acids at different levels on the nutritive value, ruminal in vitro biogas production and fermentation. *Biomass Conv Bioref*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02508-y>
34. Elghandour MMY, Kholif AE, Salem AZM, Monteiro de Oca R, Barbabosa R, Mariacuruma M, Olatokun OA (2016) Addressing sustainable ruminal methane and carbon dioxide emissions of soybean hulls by organic acid salts. *J Clean Prod* 135:194–200

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Terms and Conditions

Springer Nature journal content, brought to you courtesy of Springer Nature Customer Service Center GmbH ("Springer Nature").

Springer Nature supports a reasonable amount of sharing of research papers by authors, subscribers and authorised users ("Users"), for small-scale personal, non-commercial use provided that all copyright, trade and service marks and other proprietary notices are maintained. By accessing, sharing, receiving or otherwise using the Springer Nature journal content you agree to these terms of use ("Terms"). For these purposes, Springer Nature considers academic use (by researchers and students) to be non-commercial.

These Terms are supplementary and will apply in addition to any applicable website terms and conditions, a relevant site licence or a personal subscription. These Terms will prevail over any conflict or ambiguity with regards to the relevant terms, a site licence or a personal subscription (to the extent of the conflict or ambiguity only). For Creative Commons-licensed articles, the terms of the Creative Commons license used will apply.

We collect and use personal data to provide access to the Springer Nature journal content. We may also use these personal data internally within ResearchGate and Springer Nature and as agreed share it, in an anonymised way, for purposes of tracking, analysis and reporting. We will not otherwise disclose your personal data outside the ResearchGate or the Springer Nature group of companies unless we have your permission as detailed in the Privacy Policy.

While Users may use the Springer Nature journal content for small scale, personal non-commercial use, it is important to note that Users may not:

1. use such content for the purpose of providing other users with access on a regular or large scale basis or as a means to circumvent access control;
2. use such content where to do so would be considered a criminal or statutory offence in any jurisdiction, or gives rise to civil liability, or is otherwise unlawful;
3. falsely or misleadingly imply or suggest endorsement, approval, sponsorship, or association unless explicitly agreed to by Springer Nature in writing;
4. use bots or other automated methods to access the content or redirect messages;
5. override any security feature or exclusionary protocol; or
6. share the content in order to create substitute for Springer Nature products or services or a systematic database of Springer Nature journal content.

In line with the restriction against commercial use, Springer Nature does not permit the creation of a product or service that creates revenue, royalties, rent or income from our content or its inclusion as part of a paid for service or for other commercial gain. Springer Nature journal content cannot be used for inter-library loans and librarians may not upload Springer Nature journal content on a large scale into their, or any other, institutional repository.

These terms of use are reviewed regularly and may be amended at any time. Springer Nature is not obligated to publish any information or content on this website and may remove it or features or functionality at our sole discretion, at any time with or without notice. Springer Nature may revoke this licence to you at any time and remove access to any copies of the Springer Nature journal content which have been saved.

To the fullest extent permitted by law, Springer Nature makes no warranties, representations or guarantees to Users, either express or implied with respect to the Springer nature journal content and all parties disclaim and waive any implied warranties or warranties imposed by law, including merchantability or fitness for any particular purpose.

Please note that these rights do not automatically extend to content, data or other material published by Springer Nature that may be licensed from third parties.

If you would like to use or distribute our Springer Nature journal content to a wider audience or on a regular basis or in any other manner not expressly permitted by these Terms, please contact Springer Nature at

onlineservice@springernature.com

DISCUSIÓN GENERAL

Experimento 1: evaluación *in vitro*

Los aditivos fitogénicos alteran la fermentación ruminal debido a sus metabolitos secundarios que pueden mejorar la nutrición, digestión y disponibilidad de nutrientes. Algunos de los compuestos fenólicos estimulan el crecimiento de colonias microbianas (Tzounis et al., 2008). El extracto de *Caesalpinia coriaria* aumentó la cinética de GP y disminuyó el tiempo de retraso. Este resultado no coincide con Campos–Pérez, et al (2021), quien observó que un mayor contenido de taninos condensados las concentraciones de *C. coriaria* disminuyeron la producción de biogases. A pesar de los taninos condensados presentes en el extracto utilizado en el presente estudio, el aumento de la producción de gas en el estudio actual puede ser asociado con un alto nivel de fenoles y flavonoides de *C. coriaria*, que pueden haber estimulado el crecimiento de una colonia microbiana particular. Además, el corto tiempo de retraso sugiere que los fenoles y flavonoides ayudaron a los microorganismos a adaptarse fácilmente a la dieta y a la fermentación, la cual comenzó rápidamente. Esta visión se ve reforzada por la interacción del líquido ruminal y la dosis de extracto de *C. coriaria*, donde los grupos con la dosis más alta de extracto de *C. coriaria* tuvo el más corto tiempo de retraso, mientras que aquellos sin extracto presentaron el tiempo de retraso más largo, indicando que la ausencia de extracto de *C. coriaria* prolongo la adaptación de los microorganismos a la dieta. Esto sugiere que la inclusión del extracto de *C. coriaria* mejora la fermentación ruminal, beneficiando a rumiantes que reciben esta dieta. Sin embargo, cuando se midió la producción de gas por materia seca incubada y digerida, los corderos alimentados con *C. coriaria* tuvieron la menor producción de gas. Esto indica que, a largo plazo, *in vivo*, el uso del extracto de *C. coriaria* alteró el patrón de fermentación ruminal. Además, Manuel–Pablo et al. (2020) demostró que el fruto de *C. coriaria* ofrecido a las cabras redujo la población de algunos microorganismos del rumen. Esto sugiere que el uso prolongado del fruto de *C. coriaria* en dosis más altas afectó a la microbiota ruminal, sin afectar el crecimiento caprino, es, sin embargo, interesante que cuando se añadió extracto de frutos de *C. coriaria in vitro*, la producción de gas mejoró en comparación con líquido ruminal sin extracto de fruto de *C. coriaria* a las 24 y 48 horas de incubación. Esto implica que los compuestos fenólicos y flavonoides del extracto del fruto de *C. coriaria* ejerce un efecto “reconstituyente/estimulante” sobre la actividad microbiana del rumen, aumentando la actividad de fermentación. Los corderos que recibieron *C. coriaria* tuvieron la mayor

concentración de CH₄, sin embargo, cuando el CH₄ se midió por gramo de materia seca incubada y digerida, *C. coriaria* disminuyó el CH₄ por cada gramo de alimento incubado y digerido. La disminución de CH₄ y su producción se puede atribuir al contenido de taninos del fruto de este árbol, que exhibió actividad antimetanogénica. Campos-Pérez et al (2021) informaron que el fruto de *C. coriaria* puede reducir CH₄ creando una alternativa de H₂ evitando que los microorganismos utilicen H₂.

En el presente estudio, la forma alternativa de sumidero de hidrógeno podría ser las bacterias reductoras de sulfuro (BRS). Esto se debe a que hay una relación interactiva y competitiva entre metanógenos y bacterias reductoras de sulfuro. Esta especie bacteriana también puede unirse competitivamente a iones de hidrógeno ya que la energía aportada por los sulfatos es mayor. Junto a la temperatura de incubación y la temperatura ruminal de 37 °C, favorecen el uso de hidrógeno (Colleran y Pender, 2002). Por lo tanto, si los niveles de sulfato exceden una concentración particular en el rumen, el reductor de sulfato, las bacterias proliferan, creando un sumidero de hidrógeno alternativo y disminuyendo la producción de CH₄ (Shah et al., 2020). Manuel-Pablo et al. (2020) informaron la reducción de protozoarios del rumen en cabras alimentadas con frutos de *C. coriaria*. Esto sugiere que el fruto de *C. coriaria* presenta actividad antimetanogénica reducida a través de la creación de un sumidero alternativo para H₂ o la disminución de las bacterias reductoras de azufre. Esto se debe a que hay una relación interactiva y competitiva entre metanógenos y bacterias reductoras de azufre.

Experimento 2: evaluación *in vivo*

La producción y la eficiencia son parámetros cruciales en la producción ganadera. La ingesta de alimento y agua juega un papel importante en estos procesos. El aumento observado en el consumo de alimento y agua en este estudio puede atribuirse al aumento de la tasa de crecimiento o del peso de los animales, que también requirió una mayor demanda nutricional. El aumento simultáneo en el consumo de agua y alimento sugiere una relación positiva entre ambos parámetros. Este aumento en el consumo de alimento condujo a un aumento en la ganancia diaria peso (GDP), lo que indica que los corderos utilizaron el alimento de manera eficiente. El aumento dependiente de la dosis en la GDP al aumentar el extracto puede atribuirse a su capacidad para estimular la digestión,

mejorando así la ingesta y utilización del alimento. Las plantas ricas en ingredientes bioactivos pueden ayudar a mejorar la digestión y disponibilidad de nutrientes porque sus metabolitos pueden mejorar la actividad ruminal y mejorar el suministro de aminoácidos al intestino (Huang et al., 2018). Sin embargo, en altas concentraciones, las actividades de los microbios del rumen y las enzimas digestivas podrían disminuir e inhibirse (Shangru et al., 2022). El aumento de la GDP dependiente de la dosis sugiere que la EC60 no fue perjudicial para el crecimiento de los corderos. Una comprensión integral del comportamiento alimentario del ganado es crucial para planificar estrategias de alimentación y garantizar el bienestar (Carnevali et al., 2020). El aumento de la actividad $alimentaria$ se correlaciona bien con el aumento de la ingesta de alimento, lo que indica que el extracto en los corderos EC30 y EC60 estimuló su apetito, lo que los llevó a pasar más tiempo $comiendo$. Otra posibilidad es que una mayor digestión del alimento mejore el tiempo de transición del alimento o el vaciado intestinal, animándolos a comer más. Los estudios han demostrado que $comiendo$. Otra posibilidad es que una mayor digestión del alimento mejore el tiempo de transición del alimento o el vaciado intestinal, animándolos a comer más. Los estudios han demostrado que aumenta la temperatura, la actividad de rumia disminuye y se produce una menor tasa de calor metabólico (Itavo et al., 2011). Por lo tanto, en este estudio, el menor tiempo de rumia observado en los corderos EC30 puede deberse a la mayor temperatura corporal entre los corderos. También se observó que los corderos con menos tiempo para comer pasaban más tiempo rumiando, lo que reducía el calor metabólico generado durante la digestión. Esto sugiere que, como alternativa a la hora de comer, rumiar se convirtió en la opción preferida. Además, Itavo et al. (2011) observaron un mayor tiempo de descanso con una disminución del tiempo de rumia. Esto implica que el mayor tiempo de rumia observado en corderos sin extracto (EC0) podría ser la razón del menor tiempo de descanso. Los parásitos gastrointestinales contribuyen significativamente a las pérdidas económicas en la producción ganadera, ya que compiten con el ganado por los nutrientes y pueden afectar la tasa de crecimiento de los animales. Por lo tanto, la utilización de hierbas que contienen potentes metabolitos secundarios puede ayudar a reducir la dependencia de drogas sintéticas en la producción de rumiantes (Jack et al., 2020). Los estudios de Jesús-Martínez et al. (2020) demostraron los efectos *in vitro* e *in vivo* de *C. coriaria* contra los parásitos intestinales. La disminución dependiente de la dosis observada en el recuento de huevos de parásitos puede atribuirse a la presencia de polifenoles como taninos de metilo en la planta (Tipu et al., 2006).

Por lo tanto, esta reducción en el recuento de huevos contribuyó a los efectos promotores del crecimiento observados o al aumento diario promedio en este estudio. La reducción en el recuento de huevos fecales ayudó a reducir la competencia por los nutrientes, lo que desvió los nutrientes para promover el crecimiento, lo que resultó en un aumento de la ganancia diaria promedio. La capacidad del tanino para unirse a proteínas también podría haber dado lugar a un efecto sinérgico responsable de la reducción del recuento de huevos en heces. Indu y Pareek (2015) informaron que la reducción del huevo era una función de la distorsión fisiológica por la precipitación de su contenido de proteína por el tanino. Esta visión de la capacidad de las plantas para reducir el recuento de huevos, lo que resulta en un mayor crecimiento, también fue reportada por Jack et al. (2020) cuando usaron semillas necesarias corderos. La capacidad de *C. coriaria* para reducir el recuento de huevos en las heces es importante en un mundo que intenta reducir su dependencia de las drogas sintéticas y volverse "limpio". Esto muestra las tendencias nutracéuticas del extracto y, combinado con un manejo, mejorará la producción animal. La implicación de esto es que los agricultores locales pueden utilizar esto como alternativa a los medicamentos y podría conducir al desarrollo de la producción de hierbas. La única advertencia es que las empresas deben evitar la extracción de los ingredientes activos de estas hierbas únicamente, ya que podría generar resistencia con el tiempo. Las hierbas durante muchos años han sido utilizadas por animales en la naturaleza durante milenios sin resistencia porque muchos fitoquímicos en las plantas se encuentran en múltiples que trabajan sinérgicamente para ayudarse entre sí.

La frecuencia de la respiración sirve como indicador del estrés por calor en las ovejas y puede actuar como un modulador entre la disipación y la producción de calor. Un aumento de la frecuencia respiratoria representa un esfuerzo para mejorar la evaporación respiratoria y reducir la temperatura de la piel. Por lo tanto, la disminución dependiente de la dosis en la frecuencia respiratoria y la temperatura anal indica que el extracto podría controlar la temperatura corporal. Por otro lado, la mayor frecuencia respiratoria podría deberse a una mayor generación de calor durante la rumia, lo que lleva a la necesidad de una mayor frecuencia respiratoria para disipar el calor generado durante la rumia.

Como medio de disipación de calor, los animales utilizan la vasodilatación periférica, elevan la frecuencia respiratoria y cardíaca, aumentan la temperatura de la piel y, en consecuencia, reducen la

ingesta de alimento. El aumento observado en la frecuencia respiratoria y la temperatura de las partes del cuerpo después de la alimentación (AFM) en comparación con antes de la alimentación (BFM) en este estudio se puede atribuir a la termogénesis inducida por la dieta. La elevación de la temperatura corporal después de la alimentación se debe a un mayor gasto energético, conocido como termogénesis inducida por la dieta o efecto térmico de la alimentación (Adegbeye et al., 2021). La termogénesis inducida por la dieta está influenciada por la digestión del alimento y el aumento de la utilización de energía, lo que provoca un aumento agudo en la temperatura corporal de varias especies (Piccione et al., 2003). El aumento general de la temperatura en diferentes partes del cuerpo y la frecuencia respiratoria entre BFM y ASM puede atribuirse al ritmo circadiano de la temperatura corporal, que es bajo por la mañana y alto por la noche y puede verse influenciado por la temperatura ambiental y la termogénesis inducida por la alimentación. Además, el aumento de temperatura en la ASM puede deberse al efecto aditivo de las actividades de anticipación de alimentos, la producción de calor metabólico inducida por la dieta y el aumento rítmico de la temperatura corporal [32]. Sin embargo, independientemente de la causa, las temperaturas obtenidas en este estudio estuvieron dentro del rango reportado por Adegbeye et al. (2021) para pequeños rumiantes. En todas las partes del cuerpo, el aumento de temperatura puede atribuirse al flujo sanguíneo a varias regiones del cuerpo, lo que conduce a la pérdida de calor vasomotor y desempeña un papel clave en la regulación de la temperatura (Cuesta et al., 2017). El rango de variación de temperatura para las zonas del cuerpo en este estudio fue de 0,5 a 4,93 °C. Esto sugiere que partes del cuerpo como la cabeza, el cuello, la escápula, el flanco, el abdomen, el anca y la pierna son importantes para la eliminación/disipación del calor, siendo el anca el que tiene la mayor variación de temperatura. Los diversos rangos de excursión observados en este estudio para cada extracto sugieren que la dosis de ingesta de extracto/hierba tiene efectos variables sobre la velocidad del flujo sanguíneo que transporta calor desde la temperatura central del cuerpo hasta las zonas periféricas u otras partes del cuerpo. Esto es apoyado por Cuesta et al. (2017), quienes descubrieron que un aumento en la temperatura de la piel es provocado por un aumento del flujo sanguíneo de la piel, lo que resulta en una pérdida de calor que regula a la baja la temperatura corporal central. La correlación se utiliza a menudo para indicar el grado de relación entre dos variables,

En muchos estudios fisiológicos, la frecuencia respiratoria se puede utilizar para evaluar si un animal está estresado por calor, entre otros factores, mientras que la temperatura rectal se puede utilizar para evaluar la temperatura corporal central e indicar si un animal está estresado por calor. Por lo tanto, al comparar la variación en la temperatura de las partes del cuerpo tomada por la mañana con la tarde, un aumento observado por la mañana mostró una fuerte correlación positiva entre la frecuencia respiratoria y la temperatura del cuello, y entre la temperatura rectal y la temperatura abdominal. Sin embargo, por la tarde, hubo un cambio en el patrón de correlación, surgiendo una fuerte correlación

entre la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal, anca y anal. Además, se encontró una fuerte correlación entre la temperatura rectal y la temperatura del abdomen, testículo derecho y anal. La única correlación consistente entre las temperaturas de la mañana y la tarde fue una fuerte correlación positiva entre la temperatura rectal y la temperatura abdominal. Esto sugiere que existen múltiples puntos corporales para la disipación de calor a medida que la hora del día cambia de la mañana a la tarde. También una transición de calor de la región abdominal a la zona rectal.

CONCLUSIONES

El líquido ruminal de corderos administrado vía oral con 60 mL de extracto de frutos de *C. coriaria* y 1.2 – 1.8 mL/g de MS mejoró la actividad antimetanogénica, de CO₂ y H₂S; redujo la producción total de gas y tuvo mejores ME y SCFA.

Sin embargo, sin agregar extractos de frutos, 30 mL/día la suplementación oral a los corderos es óptima para la digestión, la EM y producción de AGCC. Por lo tanto, la suplementación oral con 60/mL/día/cordero de extracto de frutos de *C. coriaria* es óptimo para la fermentación ruminal y reducción de metano. La actividad de los metabolitos secundarios de *C. coriaria* mostró potencial como aditivo alimentario para disminuir las emisiones entéricas de CH₄, lo cual es importante para el desarrollo sostenible de la producción de rumiantes.

El extracto acuoso de frutos de *C. coriaria* contiene compuestos fenólicos y flavonoides biológicamente eficaces, además de vitaminas. El extracto acuoso mejoró la ganancia diaria de peso de los corderos, redujo los huevos de parásitos en heces y mejoró la ingesta de alimento y agua. El extracto de *C. coriaria* influye en las conductas alimentarias, como el tiempo dedicado a comer y rumiar. El extracto de frutos de *C. coriaria* ayuda a reducir la frecuencia respiratoria en el cordero. Por lo tanto, el uso del extracto acuoso de frutos de *C. coriaria*, hasta 60 mL (CE60), demostró efectos benéficos en los corderos, incluida una mayor productividad. 60 mL mostró efectos benéficos en los corderos, incluida una mayor productividad, actividad antiparasitaria y alivio de la temperatura corporal. Es necesario realizar más estudios sobre los componentes individuales de los frutos de *C. coriaria* para determinar su efecto sobre la temperatura/fisiología corporal y saber si los efectos son individuales o sinérgicos. Esto también se debe hacer en otras condiciones de cría, como el sistema extensivo o semi-intensivo, para determinar su eficacia en todas las condiciones de crianza. Además, deberían realizarse estudios sobre los efectos a largo plazo en diferentes razas, así como en diferentes condiciones ambientales para determinar la confiabilidad e integridad de este extracto.

REFERENCIA DE REVISIÓN DE LITERATURA

- A. Manuel–Pablo, M.M.Y. Elghandour, J. Olivares- Pérez, S. Rojas–Hernández, M. Cipriano–Salazar, B. Cruz - Lagunas, L.M. Camacho–Díaz., 2018. Productive performance, rumen fermentation and carcass yield of goats supplemented with cascalote fruit (*Caesalpinia coriaria* J. Wild.) Agroforestry Systems Pp. 94.
- Adegbeye MJ, Ravi Kanth Reddy P, Obaisi AI, Elghandour MMY, Oyebamiji KJ, Salem AZM, Morakinyo-Fasipe OT, Cipriano-Salazar M, Camacho-Díaz LM., 2020. Sustainable agriculture options for production, greenhouse gasses and pollution alleviation, and nutrient recycling in emerging and transitional nations - an overview. Journal of Cleaner Production 242, 118319.
- Ahmed J, Almeida E, Aminetzah D, et al (2020) Agriculture and climate change. Reducing emissions through improved farming practices. Pp. 1-45.
- Akande K. E., Doma, U. D., Agu, H.O., Adamu. H. M. 2010. Major Antinutrients Found in Plant Protein Sources: Their Effect on Nutrition. Pakistan Journal of Nutrition 9, 827-832.
- Aletor, V. A. 1991. Anti-nutritional factors in some Nigerian feedstuffs, herbage byproducts, crop residues and browse plants. A monograph prepared for the Presidential task force on alternative formulation of livestock feeds; Product Development, Quality Evaluation and Health Implications.
- Allen MR, Shine KP, Fuglestvedt JS, et al (2018) A solution to the misrepresentations of CO₂-equivalent emissions of short-lived climate pollutants under ambitious mitigation. NPJ Clim Atmos Sci.1:16.
- Alshaikh N, Perveen K (2017) Anti-candidal activity and chemical composition of essential oil of clove (*Syzygium aromaticum*). J Essen Oil Bearing Plt 20(4):951-958.
- Anderson, R. C., Vodovnik, M. Min, B. R., Pinchak, W. E., Krueger, N.A., Harvey, R. B., et al. 2012. Bactericidal effect of hydrolysable and condensed tannin extracts on *Campylobacter jejuni* in vitro. Folia Microbiol. 57, 253–258.
- Andrews, D. J., Kumar, K. A. 1992. Pearl millet for food, feed and forage. Adv. Agron. 48, 89–139.
- Arakiyaraj S, Stalin A, Shin H (2019) Anti-methanogenic effect of rhubarb (*Rheum* spp.) – An *in silico* docking studies on methyl-coenzyme M reductase (MCR). Saudi J Biol Sci 26, :1458-1462.

- Ashmawy NA, Farraj DA, Salem MZM, et al (2020) potential impact of *Pinus halepensis* Miller trees as a source of phytochemical compounds: antibacterial activity of the cones essential oil and n-butanol extract. *Agrofor syst Syst* 94,1403-1413.
- Avato, P., Bucci, R., Tava, A., Vitali, C., Rosato, A., Bialy, Z., Jurzysta, M. 2006. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* spp.: Structure-activity relationship. *Phytother Res.*, 20, 454-457.
- Bardocz, S., Grant, G., Ewen, S. W., Duguid, T. J., Brown, D. S., Englyst, K., Pusztai, A. 1995. Reversible effect of phytohaemagglutinin on the growth and metabolism of rat gastrointestinal tract. *Gut* 37, 353–360.
- Baruah L, Malik PK, Kolte AP et al (2018) Methane mitigation potential of phyto-sources from Northeast India and their effect on rumen fermentation characteristics and protozoa *in vitro*. *Vet World* 11, 809-818.
- Bayat AR, Tapio I, Vilkki J et al (2018) Plant oil supplements reduce methane emissions and improve milk fatty acid composition in dairy cows fed grass silage-based diets without affecting milk yield. *Journal of Dairy Science* 101, 1136-1151.
- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F et al (2008) Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust J Exp Agric* 48, :21-27.
- Benchaar C (2020) Feeding oregano oil and its main component carvacrol does not affect ruminal fermentation, nutrient utilization, methane emissions, milk production, or milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 103(2), 1516-1527.
- Benchaar C, Greathead H (2011) Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim Feed Sci Tech* 166:338-355.
- Benchaar C, Pomar C, Chiquette J (2001) Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. *Can Journal of Animal Science* 81, :563-574.
- Besharati M, Moaddab V, Nemati Z, et al (2020) influence of cinnamon essential oil and monensin on the ruminal biogas kinetic of waste pomegranate seeds as a biofriendly agriculture environment. *Waste Biom Valor.*<https://doi.org/10.1007/s12649-020-01167-2>
- Bhattarai, S., Coulman, B., Biligetu, B. 2016. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.): Renewed interest as a forage legume for western Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 96, 748–756.
- Bhutkar, M. A., Bhise, S. B. 2012. In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *International Journal of Chemical Science*, 10, 457–462.

- Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, (2009) Descripción del árbol de cascalote *Caesalpinia coriarea* (Jacq.) Willd. Consultado en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Cascalote&id=7133>.
- Blumert, M., Liu, J. 2003. Jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*), China's Immortality Herb 3rd ed. Torchlight.
- Božik M, Nový P, Klouček P (2017) Chemical composition and antimicrobial activity of cinnamon, thyme, oregano and clove essential oils against plant pathogenic bacteria. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65(4):129-1134.
- Broudiscou LP, Papon Y, Broudiscou AF (2002) Effects of dry plant extracts on feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. *Anim Feed Sci Technol* 101, :183-189.
- Burt S (2004) Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods— A review. *Int J Food Microbiol* 94:223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- Cain M. (2018) Guest post: a new way to assess "global warming potential" of shortlived pollutants. [Internet]. London, UK: CarbonBrief; c2018. Accessed December 5, 2019. Available from: <https://www.carbonbrief.org/guestpost-a-new-way-to-assess-global-warming-potential-of-short-livedpollutants>.
- Campos – Pérez., L. M. Camacho – Díaz., M.J. Abdegbeye., M.M.M.Y. Elghandour., A.Z. M.Salem., A. Barbosa – Pliego., S. Rojas – Hernández., M. Cipriano Salazar (2021).:Valorization of *Caesalpinia coriaria* Fruit Waste to Enhance the Ruminal Mitigation of Greenhouse Gases Production. *Springer Nature Res* – 4491 4491 – 5000
- Caputo L, Souza LF, Alloisio S et al (2016) *Coriandrum sativum* and *Lavandula angustifolia* essential oils: Chemical composition and activity on central nervous system. *Int Journal Mol Sci* 17(12):1999.
- Carulla, J. E., M. Kreuzer, A. Machmüller, H. D. Hess. (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 15, (56), 961-970.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A (2006) Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *Journal of Dairy Science* 89, :2649-2658.
- Cayetano J. (2014) Efecto de la adición de extracto de *Salix babylonica* y enzimas exógenas en la dieta base, sobre la calidad de la carne de corderos Suffolk. Tesis de maestría de la Universidad Autónoma del Estado de México.

- Chahbi A, Nassik S, El Amri H et al (2020) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Aromatic Plants Cultivated in Morocco (*Cinnamomum cassia* and *Origanum compactum*). *J Chemistry*, 2020.
- Cheeke, P. R. 1996. Biological effects of feed Commercial use and forage saponins and their impact on animal production. In *Saponins Used in Food and Agriculture*, 377-386 [GR Waller and Y Yamasaki, editors]. New York: Plenum Press.
- Chunmei, G., Hongbin, P., Zewei, S., Guixin, Q. 2010. Effect of Soybean Variety on Anti-Nutritional Factors Content, and Growth Performance and Nutrients Metabolism in Rat. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11, 1048-1056.
- Cobellis G, Trabalza-Marinucci M, Marcotullio MC (2016) Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. *Anim Feed Sci Tech* 215:25-36.
- Corder, R. 2006. Tannins in Some European Reds have Greater Protective Effects on Heart than Other Red Wines. *Nature Online Advance Edition. News Release, Queen Mary University of London.* Retrieved on 05/06/07 at <http://www.cbsnews.com/stories/2006/11/29/health/webind/main2215429.html>.
- Dohme F, Machmuller A, Estermann BL et al (1999) The role of the rumen ciliate protozoa for methane suppression caused by coconut oil. *Lett Appl Microbiol* 29, :187-192.
- Dong Y, Bae HD, McAllister TA et al (1997) Lipid induced depression of methane production and digestibility in the artificial rumen system. *Can Journal of Animal Science* 77, :269-278.
- Dube, J. S., Reed, J. D., Ndlovu, L. R. 2001. Proanthocyanidins and other phenolics in Acacia leaves of Southern Africa, *Animal Feed Science and Technology*, 91, 59-67. Embaby H.El-Sayed, 2011. Effect of Heat Treatments on Certain Antinutrients and in vitro Protein Digestibility of Peanut and Sesame Seeds. *Food Sci. Technol. Res.*, 17, 31 – 38, 2011
- Dublecz, K. 2011. *Animal nutrition.* http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_angol_04_takarmanyozastan/index.html.
- Dziri S, Casabianca H, Hanchi B et al (2014) Composition of garlic essential oil (*Allium sativum* L.) as influenced by drying method. *J Essen Oil Res* 26(2):91-96.
- Edwards JE, Huws SA, Kim EJ et al (2008) Advances in microbial ecosystem concepts and their consequences for ruminant agriculture. *Anim* 2:653–660.

- Elghandour MM, Salem MZM, Greiner R et al (2018e). Effect of natural blends of garlic and eucalyptus essential oils on biogas production of four fibrous feed at short term incubation in the ruminal anaerobic biosystem. *J Sci Food Agric* 98:5313-5321
- Elghandour MMY, Antolin-Cera X, Salem AZM et al (2018d) Influence of *Escherichia coli* inclusion and soybean hulls based diets on ruminal biomethane and carbon dioxide productions in sheep. *J Clean Prod* 192, :766-774.
- Elghandour MMY, Khusro A, Salem AZM et al (2018c) Role of dose dependent *Escherichia coli* as ruminal anti-microflora agent to mitigate biogases production in prickly pear cactus flour based diet. *Microb Pathog* 115, :208-215.
- Elghandour MMY, Kholif AE, Bastida AZ et al (2015) *In vitro* gas production of five rations of different maize silage and concentrate ratios influenced by increasing levels of chemically characterized extract of *Salix babylonica*. *Turk J Vet Anim Sci* 39, :186-194.
- Elghandour MMY, Kholif AE, Hernandez A et al (2017a) Effects of organic acid salts on ruminal biogas production and fermentation kinetics of total mixed rations with different maize silage to concentrate ratios. *J Clean Prod* 147, :523-530.
- Elghandour MMY, Kholif AE, López S et al (2016c) In vitro gas, methane, and carbon dioxide productions of high fibrous diet incubated with fecal inocula from horses in response to the supplementation with different live yeast additives. *J Equine Vet Sci* 38, :64-71.
- Elghandour MMY, Kholif AE, Salem AZM et al (2016a) Addressing sustainable ruminal methane and carbon dioxide emissions of soybean hulls by organic acid salts. *J Clean Prod* 135, :194-200.
- Elghandour MMY, Kholif AE, Salem AZM et al (2016b) Sustainable anaerobic rumen methane and carbon dioxide productions from prickly pear cactus flour by organic acid salts addition. *J Clean Prod* 139, :1362-1369.
- Elghandour MMY, Khusro A, Greiner R et al (2018a) Horse fecal methane and carbon dioxide production and fermentation kinetics influenced by *Lactobacillus farciminis*-supplemented diet. *J Equine Vet Sci* 62, :98-101.
- Elghandour MMY, Rodríguez-Ocampo I, Parra-Garcia A et al (2018b) Biogas production from prickly pear cactus containing diets supplemented with *Moringa oleifera* leaf extract for a cleaner environmental livestock production. *J Clean Prod* 185, :547-553.
- Elghandour MMY, Salem AZM, Khusro A et al (2017c) Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH₄ and CO₂ emissions in dairy calves at different age. *J Clean Prod* 162, :1192-1199.

- Elghandour MMY, Vallejo LH, Salem AZM et al (2017d) Effects of *Schizochytrium* microalgae and sunflower oil as sources of unsaturated fatty acids for the sustainable mitigation of ruminal biogases methane and carbon dioxide. *J Clean Prod* 168, :1389-1397.
- Elghandour MMY, Vallejo LH, Salem AZM et al (2017e) *Moringa oleifera* leaf meal as an environmental friendly protein source for ruminants: Biomethane and carbon dioxide production, and fermentation characteristics. *J Clean Prod* 165, :1229-1238.
- Elghandour MMY, Vázquez JC, Salem AZM et al (2017b) *In vitro* gas and methane production of two mixed rations influenced by three different cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Appl Anim Res* 45, 385-395.
- Enjalbert F, Combes S, Zened A et al (2017) Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *J Appl Microbiol* 123:782–797.
- EPA (2006) Global mitigation of non-CO₂ gases. Washington, DC, USA: Environmental Protection Agency (EPA).
- EPA (2011) Greenhouse gas emissions and sinks. Washington, DC, USA: Environmental Protection Agency (EPA).
- EPA. 1990. Summary Review of Health Effects Associated with Hydrogen Cyanide, Health Issue Assessment Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency Research Triangle Park, North Carolina, USA.
- ErmLer U, Grabarse W, Shima S et al (1997) Crystal structure of Methyl-coenzyme M reductase: The key enzyme of biological methane formation. *Science* 278, :1457-1462.
- European Union (2020) Study on Future of EU livestock: how to contribute to a sustainable agricultural sector? Final report. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2020 pg 1-82 doi: 10.2762/3440
- Evans JD, Martin SA (2000) Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol* 41, :336-340.
- Faniyi TO, Adegbeye MJ, Elghandour MMY et al (2019) Role of diverse fermentative factors towards microbial community shift in ruminants. *J Appl Microbiol* 127:2–11
- FAO (2017) Global Livestock Environmental Assessment Model (GLEAM). Rome, FAO. 109 pp. (available at www.fao.org/gleam/en/).

- FAO (2020) Reducing Enteric Methane for improving food security and livelihoods; <http://www.fao.org/in-action/enteric-methane/background/what-is-enteric-methane/en/>
- FAO 2016. FAO's work on climate change GHG emission: Greenhouse Gas Emissions from Agriculture, Forestry and Other Land Use www.fao.org/climate-change
- Fereidoon, S. 2014. Beneficial Health Effects and Drawbacks of Antinutrients and Phytochemicals in Foods. *Appl Microbiol Biotechnol* 97:45–55.
- Fernando, R., Pinto, M. D. P., Pathmeswaran, A. 2012. Goitrogenic Food and Prevalence of Goitre in Sri Lanka. *J. Food Sci.*, 41, 1076-1081.
- Ferri, M. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Bulletin Warta* Volume 15, Number 1, April 2009. Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Food and Agriculture Organization of the united nation (2016) FAOSTAT <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>. Accessed Janury 2021
- Food and Agriculture Organization of the united nation (2018) FAOSTAT <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>. Accessed Janury 2021
- Frank S, Havlík P, Stehfest E, et al (2019) Agricultural non-CO2 emission reduction potential in the context of the 1.5 °C target. *Nat Clim Chang*. 9:66-72.
- Gaglio R, Barbera M, Aleo A et al (2017) Inhibitory activity and chemical characterization of *Daucus carota* subsp. *maximus* essential oils. *Chem Biodiver* 14(5):e1600477.
- Garcia F, Colombatto D, Brunetti MA et al (2020) The Reduction of Methane Production in the In Vitro Ruminal Fermentation of Different Substrates is Linked with the Chemical Composition of the Essential Oil. *Animales* 10(5):786.
- Garcia F, Vercoe PE, Martínez MJ et al. (2019) Essential oils from *Lippia turbinata* and *Tagetes minuta* persistently reduce in vitro ruminal methane production in a continuous-culture system. *Anim Prod Sci* 59(4):709-720.
- Gedikoğlu A, Sökmen M, Çivit A (2019) Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci Nutr* 7(5):1704-1714.
- Gemeda BS, Hassen A (2015) Effect of tannin and species variation on *in vitro* digestibility, gas, and methane production of tropical browse plants. *Asian Australass Journal of Animal Science* 28, 188-199.

- Gemedede, H. F. and Ratta, N. 2014. Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3, 284-289.
- Gerber PJ, Steinfeld H, Henderson B et al (2013) Tackling climate change through livestock – a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Giannenas I, Skoufos J, Giannakopoulos C et al (2011) Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 94:5569–5577.
- Giri, A. P., Kachole, M. S. 2004. Amylase inhibitors of pigeon pea (*Cajanus cajan*) seeds. *Phytochemistry*. 47, 197-202.
- Gladine C, Rock E, Morand C et al (2007) Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *Br J Nutr* 98:691–701
- Goel G, Makkar HP (2012) Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Trop Anim Health Prod* 44, 729-739.
- Gomes, M. T. R., Oliva, M. L., Lopes, M. T. P., Salas, C. E. 2011. Plant proteinases and inhibitors: An overview of biological function and pharmacological activity. *Current Protein and Peptide Science*, 12(5), 417–436.
- Gonzales I., Sabatini S. 1989. Cyanide poisoning: pathophysiology and current approaches to therapy. *Int J Artif Organs*. 12, 347–355.
- Grant, G. 1991. Lectins. In: D’Mello, J. P. F., Duffus, C. M. (Eds.), *Toxic Substances in Crop Plants*, pp. 49–67, The Royal Society of Chemistry.
- Hamid, R., Masood, A., Wani, I. H., Rafiq, S. 2013. Lectins: Proteins with diverse applications. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3, S93–S103.
- Hart KJ, Yanez-Ruiz DR, Duval SM et al (2008) Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol* 147:8–35
- Hassan F, Arshad MA, Ebeid HM et al (2020) Phytogetic additives can modulate rumen microbiome to mediate fermentation kinetics and methanogenesis through exploiting diet-microbe interaction. *Front Vet Sci* Accepted ID 575801

- Hassanpour, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B., Mehmandar, F. B. 2011. Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review, International Journal of Forest, Soil and Erosion, 1, 47-53.
- Hernandez A, Kholif AE, Lugo-Coyote R et al (2017b) The effect of garlic oil, xylanase enzyme and yeast on biomethane and carbon dioxide production from 60-d old Holstein dairy calves fed a high concentrate diet. J Clean Prod 142, :2384-2392.
- Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F. J., Mantecón, A. R., Álvarez Del Pino, M. C. 2003. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. Anim Feed Sci Technol 109, 65-78.
- Hess. D.H. Gómez. J. (2004). Taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia, memorias del taller sobre taninos CIAT.
- Hiremath, N. B. 1981. Subabool (*Leucaena leucocephala*). A woner plant. Indian Dairy man.33, 351–356.
- Hristov AN, Lee C, Cassidy T et al (2013) Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 96(2):1189-1202.
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., Wang, Y. (2018). Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. Anim. Nutr. **4**, 137-150
- Ijaz M, Goheer MA (2020) Emission profile of Pakistan's agriculture: past trends and future projections. Environ Develop Sust. <https://doi.1007/s10668-020-00645-w>
- Imane NI, Fouzia H, Azzahra LF et al (2020) Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. Europ J Integ Med 35:101074.
- INAFOR. (2002). Guía de especies forestales de Nicaragua. 1era edición. Managua, Nicaragua. Editora de arte. 215 p.
- IPCC, 2014. In: Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. (Eds) Edenhofer et al. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA.
- Irala B. (2011) Uso de aditivos en la alimentación del ganado bovino. Asistencia técnico comercial. UNISAL S.A. Nutron do Brasil.

- IRENA (1992). Árboles forestales útiles para su propagación. Servicio Forestal Nacional, Managua, Nicaragua. 262 pp
- Jadhav, S. J., Sharma, R. P., Salunke, D. K. 2009. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. *CRC Crit Rev Toxic.* 9, 21-104.
- Jahani-Azizabadi H, Danesh Mesgaran M, Vakili A et al (2011) Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. *Afr J Microbiol Res.* 5(27):4812-4819.
- Jenkins, K. J., Atwal, A. S. 1994. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick. *J. Nutri Biochem.* 5:134-138.
- Jesus-Martinez, X.D., Olmedo-Juarez, A., Rojas Hernandez, S., Zamilpa, A., Mendoza de Gives, P., Lopez-Arellano, M.E., Villa-Mancera, A., Camacho-Díaz, L.M., Cipriano Salazar, M., Olivares-Perez, J. (2020). Evaluation of the hydroalcoholic extract elaborated with *Caesalpinia coriaria* Jacq Willd tree fruits in the control of *Haemonchus contortus* Rudolphi. *Agrofor. Syst.* 94, 1315–1321 <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00398-0>(0123456789
- Joch M, Cermak L, Hakl J et al (2016) *In vitro* screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. *Asian-Australas Journal of Animal Science* 29:952. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0474>.
- Joch M, Kudrna V, Hakl J et al (2019) *In vitro* and *in vivo* potential of a blend of essential oil compounds to improve rumen fermentation and performance of dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 251:176–186
- Johnson, I. T., Gee, J. M., Price, K., Curl, C., Fenwick, G. R. 1986. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. *J. Nutr.* 116, 2270–2277.
- Jones, R. M., et al. 1989. The effect of *Leucaena leucocephala* on the beef cattle reproduction of beef cattle grazing leucaena/grass. ??????revista, volume, paginas?????
- Joye, I. 2019. Protein digestibility of cereal products. *Foods*, 8, 199.
- Kalleli F, BettaiebRebey I, Wannas WA et al (2019) Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and methanol extract from Tunisian and French fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds. *J Food Biochem* 43(8), e12935.
- Kassahun A, Feleke G (2019) Chemical Composition and Physico-Chemical Analysis of Eucalyptus Globulus Leave and Oil. *Sci J Chem* 7(2), 36.

- Khusro A, Aarti C, Salem AZM et al (2020) Methyl-coenzyme M reductase (MCR) receptor as potential drug target for inhibiting methanogenesis in horses using *Moringa oleifera* L.: An *in silico* docking study. J Equine Vet Sci 88, 102949.
- Kim ET, Kim CH, Min KS et al (2012) Effects of plant extracts on microbial population, methane emission and ruminal fermentation characteristics in *in vitro*. Asian Australas Journal of Animal Science 25, 806-811.
- Kim H, Jung E, Lee HG et al (2019) Essential oil mixture on rumen fermentation and microbial community – an *in vitro* study. Asian-Austr Journal of Animal Science 32:6:808-814.
- Koike S, Kobayashi Y (2009) Fibrolytic rumen bacteria: their ecology and functions. Asian-Aust Journal of Animal Science 22:131–138.
- Kongmuna P, Wanapat M, Pakdeea P et al (2011) Manipulation of rumen fermentation and ecology of swamp buffalo by coconut oil and garlic powder supplementation. Livest Sci 135, :84-92.
- Krupa, U. 2008. Main nutritional and antinutritional compounds of bean seeds-a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 58, 149–155.
- Ku-Vera J, Briseño E., Ruiz R., Mayo A., Ayala C., Aguilar F., Solorio y Ramírez. (2014) Manipulación del metabolismo energético de los rumiantes en los trópicos: opciones para mejorar la producción y la calidad de la carne y leche. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Número 1.
- Kumar, R., Singh, M. 1984. Tannins their adverse role in ruminant nutrition. J Agric Food Chem. 32, 447–453.
- Liener, I. E. (1980). In: Advances in legume science. RJ Summerfield and AH. Bunting (eds.), Academic Press, New York, London.
- Lillis L, Boots B, Kenny DA et al (2011) The effect of dietary concentrate and soya oil inclusion on microbial diversity in the rumen of cattle. J Appl Microbiol 111:1426–1435
- Lin B, Lu Y, Salem AZM et al (2013) Effect of essential oil combination on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. Anim Feed Sci Tech 184, 24-32.
- Lokeswari, N., Sujatha, P., 2011. Isolation of tannins from *Caesalpinia coriaria* and effect of physical parameters. Int. Res. J. Pharm. 2, 146-152 (2011)
- Machmuller AD, Ossowski A, Wanner M et al (1998) Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro*. Anim Feed Sci Technol 71, 117-130.
- Manh NS, Wanapat M, Uriyapongson S et al (1997) Effect of eucalyptus (*Camaldulensis*) leaf meal

- powder on rumen fermentation characteristics in cattle fed on rice straw. Afr J Agri Res 7, :1997-2003.
- Manuel-Pablo, M., Elghandour, M.Y., Olivares-Perez, J., Rojas-Hernandez, S., Cipriano-Salazar, M., Cruz-Lagunas, B., Camacho-Diaz, L.M. (2020). Productive performance, rumen fermentation and carcass yield of goats supplemented with cascalote fruits (*Caesalpinia coriaria* J. Willd]. Agrofor. Syst. **94**, 1381–1391 <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0312-9>
- Márquez, L.D., Álvaro, L.S. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Revista de Medicina Veterinaria 3 (16), 90-101.
- Maurya AK, Devi R, Kumar A et al (2018) Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activities of essential oils of cultivated clones of *Juniperus communis* and wild *Juniperus* species. Chem Biod 15(9):e1800183.
- McDonald, P. Edwards, R. Greenhalgh, J y Morgan, C. 1995. Nutrición animal 5ª edición. Zaragoza, España. Acribia S.A. 145-147 p.
- McGinn SM, Beauchemin KA, Coates T et al (2004) Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. Journal of Animal Science 82, :3346-3356.
- McIntosh F, Williams P, Losa R et al (2003) Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl Environ Microbiol 69(8):5011–5014.
- Meale SJ, Chaves AV, Baah J (2012) Methane production of different forages in *In vitro* ruminal fermentation. Asian- Australas Journal of Animal Science 25, :86-91
- Mertz B, Davidson OR, Bosch PR, et al (2007) IPCC, Climate change. Mitigation. Contribution of working group iii to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, Cambridge.
- Mohamed. Z.M. Salem., Mervat El-Hefny, Haysaam M. Ali., Ahmed Abdeel-Megeed., Ahmed A.A. El-Settawy., Martin Bohn., Maisa M.A. Mansour., Abdelfattah Z.M. Salem. (2021). Plants-derived bioactives: Novel utilization as antimicrobial, antioxidant and phyto-reducing agents for the biosynthesis of metallic nanoparticles – Res – 158
- Morshedloo MR, Mumivand H, Craker LE et al (2018) Chemical composition and antioxidant activity of essential oils in *Origanum vulgare* subsp. *gracile* at different phenological stages and plant parts. J Food Proc Preserv 42(2):e13516.

- Morzelle, M. C., Salgado, J. M., Massarioli, A. P., Bachiega, P., de Oliveira Rios, A., Alencar, S. M., et al. 2019. Potential benefits of phenolics from pomegranate pulp and peel in Alzheimer's disease: Antioxidant activity and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Food Bioactives*, 5, 136–141.
- Mosier AR, Duxbury JM, Freney JR et al (1998) Mitigating agricultural emissions of methane. *Clim Chang* 40, :39-80.
- Moss AR, Jouany JP, Newbold J (2000) Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann Zootech* 49, 231-253.
- Mueller, I. 2001. Analysis of hydrolysable tannins. *Anim Feed Sci Technol* 91, 3-20.
- Muramoto, K. (2017). Lectins as bioactive proteins in foods and feeds. *Food Science and Technology Research*, 23, 487–494
- Nartey, F. 1980. Toxicological Aspects of Cyanogenesis. In: *Tropical Foodstuffs in Toxicology in the Tropics*, Smith, R.L. and E.A. Babaumn (Eds.). Taylor and Francis Ltd., London, 53-73.
- Nefzaoui A., Salem H.B., El Mourid M. (2012) Innovations in small ruminants feeding systems in arid Mediterranean areas. In: Bouche R., Derkimba A., Casabianca F. (eds) *New trends for innovation in the Mediterranean animal production*. EAAP – European Federation of Animal Science, vol 129. Wageningen Academic Publishers, Wageningen. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-726-4_14
- Newbold CJ, de la Fuente G, Belanche A et al (2015) The role of ciliate protozoa in the rumen. *Front Microbiol* 6:1313.
- Nikmaram, N., Leong, S. Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F. J., Greiner, R., et al. 2017. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food Control*, 79, 62–73.
- Nørgaard, J. V., Malla, N., Dionisio, G., Madsen, C. K., Pettersson, D., Lærke, H. N., et al. 2019. Exogenous xylanase or protease for pigs fed barley cultivars with high or low enzyme inhibitors. *Animal Feed Science and Technology*, 248, 59–66.
- Odongo NE, Garcia M, Viljoen GJ (2010) Sustainable Improvement of Animal Production and Health. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 151-157.

- Okafor, P. N., Okorie, C. N. 2006. Determination of Cyanide, Nitrate and Nitrite, contents of poultry feeds of four top animal feed companies in Nigeria. *Journal of food Technology*. 4, 225-228.
- Oke, O. L. 1979. Some aspects of the role of cyanogenic glucosides in nutrition. *Wld Rev Nutr Diet* 33, 70–103.
- Oleszek, W. 2002. Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of Chromatography* 967, 147-162.
- Olijhoek DW, Hellwing ALF, Grevsen K et al (2019) Effect of dried oregano (*Origanum vulgare* L.) plant material in feed on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk fatty acid composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 102(11):9902-9918.
- Opio C, Gerber P, Mottet A et al (2013) Greenhouse gas emissions from ruminant supply chains – a global life cycle assessment. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Ornaghi MG, Guerrero A, Vital ACP et al (2020) Improvements in the quality of meat from beef cattle fed natural additives. *Meat Sci* 163:108059.
- Otlewski, J., Jelen, F., Zakrzewska, M., Oleksy, A. 2005. The many faces of protease–protein inhibitor interaction. *The EMBO Journal*, 24, 1303–1310.
- Öz E, Koç S, Çinbilgel İ et al (2018) Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Nepeta cadmea* Boiss and *Pimpinella anisum* L. on the larvae of *Culex pipiens* L. *Marmara Pharm J* 22(2).
- Parra-Garcia A, Elghandour MMY, Greiner R et al (2019) Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on ruminal methane and carbon dioxide production and fermentation kinetics in a steer model. *Environmental Science and Pollution Research* 26,15333-15344.
- Patra AK, Kamra DN, Agrawal N (2006) Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis enzyme activities and fermentation of feed in the rumen liquor of buffalo. *Anim Feed Sci Technol* 128, :276-291.
- Patra AK, Saxena J (2009) The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutr Res Rev* 22, 204-219.
- Patra AK, Yu Z (2015) Essential oils affect populations of some rumen bacteria *in vitro* as revealed by microarray (Rumen-BactArray) analysis. *Front Microbiol* 6:297. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00297>

- Patra, A.K., Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* **91**, 24–37
- Pedraza-Hernandez J, Elghandour MMY, Khusro A et al (2019) Mitigation of ruminal biogases production from goats using *Moringa oleifera* extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment. *J Clean Prod* 234, :779-786.
- Phytolab, 2007. Phytochemicals Polyphenols–Tannic Acid. Retrieved July 6, 2007 from <http://www.Phytochemicalsinfolphytochemicals/tannic-acid>. PhD.
- Raes, K., Knockaert, D., Struijs, K., Van Camp, J. 2014. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and antinutritional factors in the plant. *Trends in Food Science & Technology*, 37, 32–41.
- Ramirez-Restrepo CA, Barry TN (2005) Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Anim Feed Sci Technol* 120, 179-201.
- Ramteke, R., Doneria, R., Gendley, M., K. 2019. Antinutritional Factors in Feed and Fodder used for Livestock and Poultry Feeding". *Acta Scientific Nutritional Health* 3, 39-48.
- Reddy PRK, Elghandour MM, Salem AZM et al (2020) Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. *Anim Feed Sci Tech* 264: 114469
- Redondo, L. M., Fernandez Miyakawa, M. E., Fortunato, R., Salvat, A., Chacana, P. 2013. Eficacia de aditivos alimentarios basados en extractos vegetales para disminuir la excreción de *Salmonella Enteritidis* en pollitos BB. II Seminario Internacional de Salmonelosis aviar. Medellin, Colombia.
- Reed, J. D., Solar, H., Wood Ward, A. 1990. Foder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effect of phenolics on nitrogen utilization. *Anim Feed Sci Technol.* 30, 39–50.
- Rosling, H. 1987 Cassava toxicity and food security: a review of health effects of cyanide exposure from cassava and of ways to prevent these effects. Uppsala. UNICEF/African Household Food Security Programme. 40p.

- Salem AZM, Elghandour MMY, Chagoyán JCV et al (2015) The effect of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on *in-vitro* total gas, methane and carbon dioxide production of diet containing 50% oat straw in horses. *J Fisheries Livest Prod* 3, :64-71.
- Salem AZM, Kholif AE, Elghandour MM (2014) Effect of increasing levels of seven tree species extracts added to a high concentrate diet on *in vitro* rumen gas output. *Anim Sci J* 85, :853-860.
- Salem, A. Z.-A. (2006). Nutritive evaluations of some browse tree foliages during the dry season: secondary compounds, feed intake and *in vivo* digestibility in sheep and goat. *Animal Feed Science and Technology*, 127, 251-267.
- Samtiya, M., Rotimi, E. Aluko, and Tejpal Dhewa . 2020. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Production, Processing and Nutrition*. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>.
- Sanchez-Carranza, J.N., Alvarez, L., Marquina-Bahena, S., Salas-Vidal, E., Cuevas, V., Jimenez, E.W., Veloz, R.A.G., Carraz, M., Gonzalez-Maya, L.: Phenolic (2017). compounds isolated from *Caesalpinia coriaria* induce S and G2/M phase cell cycle arrest differentially and trigger cell death by interfering with microtubule dynamics in cancer cell lines. *Molecules*, 22,1–14
- Schären M, Drong C, Kiri K et al (2017) Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 100:2765–2783.
- Silva LR, Azevedo J, Pereira MJ et al (2013) Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Food Chem Toxicol* 53:240-248.
- Simee, W. 2011. Isolation and determination of antinutritional compounds from root to shells of peanut (*Arachis Hypogaea*). *J. Disper. Sci. Technol.* 28, 341-347.
- Singh S, Das SS, Singh G et al (2017) Comparative studies of chemical composition, antioxidant and antimicrobial potentials of essential oils and oleoresins obtained from seeds and leaves of *Anethum graveolens* L. *Toxicol Open Access*, 3(119):2-9.
- Singh, Ajaib., et al. 2000. "Effect of application method of level of nitrogen fertilizer on nitrate content in oat fodder. *Indian Journal of Animal Nutrition* 17, 315-319.

- Singhal K, Anamika K, Singh B (2007) Effect of saponins of plant extracts on rumen fermentation and methane emission. Proceedings of International animal Nutrition Conference, National Dairy Research Institute, Karnal 2, 297.
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., Trombetta, D. 2017. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal of Pharmacology* 174, 1244–1262.
- Smitha Patel P. A., Alagundagi, S. C., Salakinkop, S. R. 2013. The anti-nutritional factors in forages - A review. *Current Biotica* 6, 516-526.
- Solomon S, Qin D, Manning M (2007) Technical summary. In: Solomon S, Qin D, Manning M, Marquis M, Averyt K, Tignor MMB, Miller HL, Chen ZL, editors. Climate change 2007. The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, Cambridge 19-91.
- Southon, S., Johnson, I. T., Gee, J. M., Prince, K. R. 1988. The effect of Gypsophylla saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat. *Br. J. Nutr.* 59, 49-55.
- Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T et al (2006) Livestock's long shadow: Environmental issues and options. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Su, B., Chen, X. 2020. Current status and potential of Moringa Oleifera leaf as an alternative protein source for animal feeds, Review article. *Front. Vet. Sci.*, <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00053>
- Tahir HU, Sarfraz RA, Ashraf A et al (2016) Chemical composition and antidiabetic activity of essential oils obtained from two spices (*Syzygium aromaticum* and *Cuminum cyminum*). *Int J Food Prop* 19(10):2156-2164.
- Tekippe JA, Tacoma R, Hristov AN et al (2013) Effect of essential oils on ruminal fermentation and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96:7892–7903.
- Tekippe JA, Hristov AN, Heyler KS et al (2011) Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94, :5065-5079.
- Thakur, A., Sharma, V., Thakur, A. 2019. An overview of anti-nutritional factors in food. *International Journal of Chemical Studies*, 7, 2472-2479.

- Timotheo, C. A., Lauer, C. M. 2018. Toxicity of vegetable tannin extract from *Acacia mearnsii* in *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 15, 659–664.
- Udedibie, A. S. I., Anyaegbu, B. C., Onyeckwu, G. C., Egbuokporo, O. C. 2004. Effects of feeding different levels of fermented and unfermented cassava tuber meals on the performance of broilers. *Nig. J. Anim. Prod.*, 31, 211-219.
- Umaru, H. A., Adamu, R., Dahiru, D., Nadro, M. S. 2007. Levels of antinutritional factors in some wild edible fruits of Northern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 6, 1935-1938.
- Van Der Ven, C., Matser, A. M., Van den Berg, R. W. 2005. Inactivation of soybean trypsin inhibitors and lipoxygenase by high-pressure processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1087–1092.
- Vargas JE, Andrés S, López-Ferreras L et al (2020) Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Sci Rep* 10, 1613. doi.org/10.1038/s41598-020-58401-z.
- Vázquez, F.A., Álvarez E.E., Parrilla L. Días L.J; Medrano W.A y De la Rosa, A.L. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Vol. VI, No. 2.
- Velázquez AE, Salem AZM, Khusro A et al (2020) Sustainable mitigation of fecal greenhouse gases emission from equine using safflower and fish oils in combination with live yeast culture as additives towards a cleaner ecosystem. *Journal of Cleaner Production* 256, 120460. doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120460.
- Waghorn G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 147, 116–139.
- World resource institute 2018. Creating a sustainable food future: synthesis report <https://www.wri.org/our-work/project/world-resources-report/publications>
- Wu J, Guo J, Liu T et al (2020) Feeding a calf starter containing monensin alone or in combination with an oregano, prebiotics, and cobalt blend to Holstein calves. *Journal of Animal Science* 98: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa214>

- Yang WZ, Benchaar C, Ametaj BN et al (2007) Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: 5671–5681.
- Yasmin, A., Zeb, A., Khalil, A. W., Paracha, G. M. U. D., Khattak, A. B. 2008. Effect of processing on anti-nutritional factors of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) grains. *Food and Bioprocess Technology*, 1(4), 415–419.
- Ye D, Karnati SKR, Wagner B et al (2018) Essential oil and monensin affect ruminal fermentation and the protozoal population in continuous culture. *Journal of Dairy Science* 101:5069–5081.
- Yilkal, T. 2015. Important Anti-Nutritional Substances and Inherent Toxicants of Feeds. *Food Science and Quality Management*. 36, 40-47.
- Zhou R, Wu J, Lang X et al (2020) Effects of oregano essential oil on in vitro ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *Journal of Dairy Science* 103:2303–2314.
- Zhou R, Wu J, Zhang L et al (2019) Effects of oregano essential oil on the ruminal pH and microbial population of sheep. *PLoS ONE* 14(5): e0217054.