

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA  
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**TESIS:**

***“Evaluación de la molécula 25-hidroxivitamina-D3 combinada con aceites esenciales como alternativa para la sustitución de promotores de crecimiento en alimentación de rumiantes en finalización”***

Que para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias

**PRESENTA:**

**MC. DANIEL ALEJANDRO MENDOZA CORTEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. Alfredo Estrada Angulo

**CO-DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

**ASESORES:**

Dr. Jesús David Urías Estrada  
Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez  
Dr. Claudio Angulo Montoya

Culiacán, Sinaloa, México; noviembre de 2024



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## AGRADECIMIENTO

A **Dios** por darme la sabiduría y fortaleza para lograr esta meta.

A la **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa**, por abrirme sus puertas y convertirse en mí segundo hogar desde el año 2013 hasta la fecha.

A la **Planta Docente** del programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la FMVZ-UAS, por ser parte de mi formación académica, las experiencias profesionales compartidas y el apoyo constante.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)** por el apoyo económico recibido durante mis estudios de Doctorado en Ciencias Agropecuarias.

A **Ganadera Rubio's SPR de RL** por permitir realizar los estudios de campo para el presente trabajo.

A la **Unidad de Engorda Experimental de Pequeños Rumiantes (UEEPR)** por volverse una extensión de mi casa, un refugio, en el cual he derramado sangre, sudor y lágrimas por intentar alcanzar mis metas y sueños, pero, en la que además de todo lo aprendido, he encontrado muy buenos amigos.

Al equipo de trabajo conformado por: **Dr. Alfredo Estrada Angulo, Dr. Alejandro Plascencia Jorquera, Dr. Jesús David Urías Estrada, Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez, Dr. Claudio Angulo Montoya, MVZ. Alma Beatriz Pérez Fernández, Dr. Jorge Luis Ramos Méndez, Dra. Yesica Janeth Arteaga Wences, Dra. Elizama Ponce Barraza, MC. Lucia de Guadalupe Escobedo Gallegos, MVZ. Jesús Aarón Quezada Rubio, Dr. Octavio Zapata Ramírez, y todos los estudiantes de posgrado y licenciatura que colaboraron en los proyectos de investigación**, muchas gracias por su amistad, apoyo incondicional y enseñanzas, por todas aquellas experiencias tanto profesionales como personales que hemos compartido durante el desarrollo de mis estudios de doctorado y a lo largo de tantos años, mi admiración y respeto para cada uno de ustedes.

## DEDICATORIA

### **A mi Familia:**

Mi Padre **Sr. José Manuel Mendoza**, por ser mi ejemplo y mostrarme lo que es capaz de hacer un hombre por su familia, el nunca rendirse, siempre conducirse con honradez, y a pesar de lo difícil que pueda ponerse la vida siempre pensar positivo y esperar lo mejor.

Mi madre **Sra. María Luisa Cortez**, por su apoyo incondicional, por fomentar en mí la dedicación y responsabilidad, por siempre preocuparse por mí y mis hermanos, por todos sus consejos y regaños, por renunciar a sus metas y sueños por hacer que sus hijos logaran los suyos, esa es la muestra más grande de amor, gracias madre santa, te amo.

Mis hermanos **José Manuel, Jorge Alfredo y Diego Antonio Mendoza Cortez**, por siempre estar ahí para apoyarme, sé que cuento con ustedes al igual que ustedes pueden contar conmigo, gracias por todas las vivencias, travesuras, peleas, risas y llantos.

Mis sobrinos **Ana Victoria, Manuel Eduardo y Daniel Alfredo**, su llegada nos cambió la vida a todos, se convirtieron en la luz que ilumino de nuevo la casa de sus abuelos, y a mí en lo particular, me dieron un motivo más para esforzarme cada día y lograr convertirme en un ejemplo para ustedes.

Mi compañera de vida **Lucia Escobedo**, gracias por siempre motivarme para esforzarme cada día, darme una palabra de aliento cuando me siento sin ánimos para continuar, por ser mi lugar seguro cuando estoy agobiado, y por apoyarme para lograr mis metas, por eso y muchas cosas más ¡Te amo "Mi Alma"!

Este logro no es solo mío, les pertenece también a ustedes. Son lo más importante de mi vida.

**¡Gracias!**

## CONTENIDO

	Página
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	I
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	II
<b>RESUMEN</b> .....	III
<b>ABSTRACT</b> .....	V
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.2.1 Condiciones climáticas y ganadería.....	3
1.2.1.1 Alta carga de calor ambiental en ganado bovino.....	4
1.2.2 Estrategias para mitigar el efecto negativo de la alta carga de calor ambiental en ganado bovino.....	6
1.2.2.1 Acceso a fuentes de agua.....	7
1.2.2.2 Uso de sombra.....	7
1.2.2.3 Uso de aspersores.....	8
1.2.2.4 Manejo alimenticio.....	8
1.2.3 Aditivos alimenticios.....	9
1.2.3.1 Uso de antibióticos promotores de crecimiento.....	9
1.2.3.1.1 Monensina sódica.....	10
1.2.3.1.2 Virginiamicina.....	15
1.2.3.2 Situación actual del uso de antibióticos como aditivos alimenticios.....	18
1.2.3.3 Uso de aditivos alternativos.....	19
1.2.3.3.1 Aceites esenciales.....	20
1.2.3.3.2 Vitamina D3.....	28
1.3 CONCLUSIÓN.....	33
<b>CAPÍTULO 2. ARTÍCULO 1. INFLUENCE OF A SUPPLEMENTAL BLEND OF ESSENTIAL OILS PLUS 25-HYDROXY-VITAMIN-D3 ON FEEDLOT CATTLE PERFORMANCE DURING THE EARLY-GROWING PHASE UNDER CONDITIONS OF HIGH-AMBIENT TEMPERATURE</b> .....	34
2.1 Abstract.....	35
2.2 Introduction.....	35

2.3 Materials and methods.....	36
2.3.1 Weather measurement and THI estimation.....	36
2.3.2 Animal processing, housing and feeding.....	36
2.3.3 Laboratory analyses.....	36
2.3.4 Calculations.....	36
2.3.5 Statistical analyses.....	37
2.4 Results and discussion.....	37
2.5 Conclusion.....	39
2.6 Acknowledgement.....	39
2.6.1 Conflict of interest.....	39
2.7 References.....	39
<b>CAPÍTULO 3. ARTÍCULO 2. COMPARING BLEND OF ESSENTIAL OILS PLUS 25-HYDROXY-VIT-D3 VERSUS MONENSIN PLUS VIRGINIAMYCIN COMBINATION IN FINISHING FEEDLOT CATTLE: GROWTH PERFORMANCE, DIETARY ENERGETICS, AND CARCASS TRAITS.....</b>	<b>41</b>
3.1 Simple summary.....	42
3.2 Abstract.....	42
3.3 Introduction.....	43
3.4 Materials and methods.....	43
3.4.1 Animal processing, diets, treatments, housing, and feeding.....	43
3.4.2 Laboratory analyses.....	45
3.4.3 Calculations.....	45
3.4.4 Carcass evaluation.....	45
3.4.5 Statistical Analyses.....	45
3.5 Results.....	46
3.6 Discussion.....	47
3.7 Conclusions.....	49
3.8 References.....	49
<b>CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	Valores ajustados de ITH a diferentes temperaturas y humedades relativas clasificadas de acuerdo a las categorías de carga de calor ambiental.....	3
2	Resumen de las estimaciones del tamaño del efecto de la monensina sobre los resultados de rendimiento en el ganado en crecimiento y finalización (Duffield <i>et al.</i> , 2012).....	14
3	Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en bovinos productores de carne, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.....	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	Efecto de monensina (M) en el flujo de iones en <i>S. bovis</i> (Russell, 1987).....	11
2	Mecanismo antibacteriano general de los aceites esenciales.....	23
3	Esquema de la ruta metabólica de la vitamina D3 (adaptado de Bacha, 2020).....	29
4	Panorama de las funciones biológicas de la vitamina D con énfasis en el músculo esquelético (Dzik y Kaczor, 2019).....	30



## RESUMEN

*“Evaluación de la molécula 25-hidroxivitamina-D3 combinada con aceites esenciales como alternativa para la sustitución de promotores de crecimiento en alimentación de rumiantes en finalización”*

MC. Daniel Alejandro Mendoza Cortez

Se desarrollaron tres experimentos para evaluar los efectos de la suplementación de aceites esenciales más 25-hidroxivitamina-D3 en comparación con la suplementación de monensina sódica y virginiamicina sobre la respuesta productiva, energética de la dieta y características de la canal en bovinos finalizados bajo alta carga de calor ambiental. Para el desarrollo del primer experimento se utilizaron noventa toros jóvenes (peso inicial de  $228.0 \pm 7.1$  kg) en un ensayo de 84 días para evaluar una mezcla de aceites esenciales más 25-hidroxivitamina-D3 como aditivo alimenticio para aliviar los efectos nocivos de la temperatura ambiental alta sobre el rendimiento del ganado en engorda durante la fase de crecimiento inicial. Los tratamientos dietéticos (9 réplicas/tratamiento) se suplementaron con: 1) 24 mg de monensina sódica/kg de MS de dieta (MON), o con 2) 119.12 mg/kg de MS de dieta de una combinación de mezcla estandarizada de aceites esenciales (119 mg) más 0.12 mg de 25-hidroxivitamina-D3 (EO+HyD). El THI promedio fue de  $82.7 \pm 3.2$ . No hubo efectos del tratamiento en las fluctuaciones diarias del consumo de materia seca (CMS). Sin embargo, EO+HyD tendió a aumentar el CMS (4.3%,  $P=0.06$ ). El suplemento de EO+HyD aumentó la ganancia de peso diaria (8.3%,  $P<0.01$ ) y la eficiencia alimenticia (4.0%,  $P=0.03$ ). El suplemento de EO+HyD tendió a aumentar la energía neta dietética estimada (2.5%,  $P=0.07$ ) y la relación energía neta (EN) dietética observada-esperada (3.0%,  $P=0.07$ ). Este efecto puede atribuirse a una reducción del 7 % en el requerimiento de mantenimiento. Para el segundo experimento se utilizaron noventa toros cruzados (peso inicial de  $349.5 \pm 8.25$  kg) en un ensayo de 87 días para comparar los efectos de una mezcla de aceites esenciales más 25-hidroxi-vitamina D3 (EO+HyD) *versus* la combinación de monensina con virginiamicina (MON+VM) sobre el rendimiento del crecimiento en corrales de engorda y las características de la canal. Los tratamientos dietéticos (nueve réplicas/tratamiento) se suplementaron con 40 mg/kg de materia seca

de dieta de MON+VM (partes iguales) o con 120.12 mg/kg de materia seca de dieta de una combinación de mezcla estandarizada de aceites esenciales (120 mg) más 0.12 mg de 25-hidroxivitamina-D3 (EO+HyD). No hubo efectos del tratamiento sobre el CMS ( $P=0.63$ ). Sin embargo, el coeficiente de variación en el CMS día a día fue mayor para EO+HyD que para MON+VM (11.4% vs. 3.88%,  $P=0.04$ ). No hubo efectos del tratamiento ( $P\geq 0.17$ ) en la ganancia de peso diaria, la eficiencia alimenticia y la EN dietética estimada. El ganado suplementado con EO+HyD tuvo mayor área del músculo *Longissimus* (7.9%,  $P<0.01$ ) y rendimiento al detalle estimado (1.6%,  $P=0.03$ ), y tendió a tener mayor peso (1.7%,  $P=0.10$ ) de la canal. Las diferencias entre los tratamientos en el rendimiento en canal, espesor de grasa, grasa renal-pélvica-cardiaca y puntuación de marmoleo no fueron significativas ( $P>0.10$ ).

**Palabras clave:** Bovinos, monensina sódica, virginiamicina, aceites esenciales, vitamina D3, respuesta productiva, características de la canal, alta carga de calor.

## ABSTRACT

*“Evaluation of the molecule 25-hydroxyvitamin-D3 combined with essential oils as an alternative for the replacement of growth promoters in feeding finishing ruminants”*

MC. Daniel Alejandro Mendoza Cortez

Three experiments were conducted to evaluate the effects of essential oils plus 25-hydroxyvitamin D3 supplementation versus monensin sodium and virginiamycin supplementation on productive and dietary energetic responses and carcass characteristics in cattle finished under high environmental heat load. The first experiment involved ninety young bulls (initial weight  $228.0 \pm 7.1$  kg) in an 84-d trial to evaluate a blend of essential oils plus 25-hydroxyvitamin D3 as a feed additive to alleviate the detrimental effects of high ambient temperature on feedlot performance during the early growth phase. Dietary treatments (9 replicates/treatment) were supplemented with either: 1) 24 mg monensin sodium/kg dietary DM (MON), or 2) 119.12 mg/kg dietary DM of a standardized essential oil blend combination (119 mg) plus 0.12 mg 25-hydroxy-vitamin D3 (EO+HyD). The average THI was  $82.7 \pm 3.2$ . There were no treatment effects on daily fluctuations in dry matter intake (DMI). However, EO+HyD tended to increase DMI (4.3%,  $P=0.06$ ). EO+HyD supplementation increased daily weight gain (8.3%,  $P<0.01$ ) and feed efficiency (4.0%,  $P=0.03$ ). EO+HyD supplementation tended to increase estimated dietary net energy (2.5%,  $P=0.07$ ) and observed-to-expected dietary net energy (NE) ratio (3.0%,  $P=0.07$ ). This effect can be attributed to a 7% reduction in maintenance requirement. For the second experiment, ninety crossbred bulls (initial weight  $349.5 \pm 8.25$  kg) were used in an 87-d trial to compare the effects of an essential oil blend plus 25-hydroxy-vitamin D3 (EO+HyD) versus the combination of monensin with virginiamycin (MON+VM) on feedlot growth performance and carcass characteristics. Dietary treatments (nine replicates/treatment) were supplemented with 40 mg/kg dietary dry matter of MON+VM (equal parts) or 120.12 mg/kg dietary dry matter of a standardized essential oil blend combination (120 mg) plus 0.12 mg of 25-hydroxy-vitamin D3 (EO+HyD). There were no treatment effects on DMI ( $P = 0.63$ ). However, the coefficient of variation in day-to-day DMI was greater for EO+HyD than for MON+VM (11.4% vs. 3.88%,  $P=0.04$ ). There were no treatment effects ( $P\geq 0.17$ ) on daily weight gain, feed efficiency, and estimated

dietary NE. Cattle supplemented with EO+HyD had greater *Longissimus* muscle area (7.9%,  $P<0.01$ ) and estimated retail yield (1.6%,  $P=0.03$ ), and tended to have greater carcass weight (1.7%,  $P=0.10$ ). Differences among treatments in carcass yield, fat thickness, renal-pelvic-cardiac fat, and marbling score were not significant ( $P>0.10$ ).

**Keywords:** Bovine, sodium monensin, virginiamycin, essential oils, vitamin D3, productive response, carcass characteristics, high heat load.

## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1 INTRODUCCIÓN

A nivel global, las actividades pecuarias contribuyen con un porcentaje estimado del 18 por ciento al total de emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero (FAO, 2009), estos hechos han provocado cambios climáticos a través del planeta aumentando las temperaturas mínimas y máximas, todo esto tiene profundos efectos en la producción agropecuaria y de alimentos tanto para los animales como para el ser humano (Arias *et al.*, 2008).

En México, la mayoría de los bovinos de engorda en corral (>65%) son finalizados en climas semiáridos, tropicales y subtropicales (Peel *et al.*, 2011), estas regiones tienen climas extremos (THI>78) la mayor parte del año que son estresantes para los animales. La alta carga de calor ambiental (ACCA) da como resultado una ingesta de energía reducida y un rendimiento deficiente, principalmente durante la fase de finalización (Hahn, 1999). Se pensó que la reducción del consumo de alimento, un fenómeno típico observado durante la ACCA, era el principal impulsor de la reducción en la tasa de ganancia. Sin embargo, la evidencia acumulada indica que la ACCA influye negativamente no solo en la ingesta de alimento (y por lo tanto, en la ingesta de energía), sino también en la tasa de crecimiento muscular (Osei *et al.*, 2019).

Se han probado varias estrategias de manejo (sombra, rociadores, ventilador de techo) para disminuir los efectos negativos de la ACCA en la tasa de ganancia, la eficiencia energética y las características de la canal en el ganado de engorda (Renaudeau *et al.*, 2012; Castro *et al.*, 2020). Además, la implementación de estrategias nutricionales ha tenido un papel importante desde hace años y, dentro de ellas, el uso de aditivos alimenticios para disminuir los efectos estresantes de la ACCA se ha convertido en un área de interés en los sistemas ganaderos.

En este sentido, la monensina sódica, un antibiótico perteneciente al grupo de los ionóforos, y la virginiamicina, un antibiótico estreptogramínico, han sido de los aditivos alimenticios más utilizados en las dietas de crecimiento-finalización para bovinos en engorda en México (Carrillo *et al.*, 2016) y en los EE. UU. (Samuelson *et al.*, 2016)

debido a sus potenciales efectos benéficos en eficiencia para ganancia y en salud digestiva.

Sin embargo, la tendencia mundial es la prohibición del uso de antibióticos como aditivos alimenticios (World Health Organization, 2017). Actualmente la suplementación con ionóforos está prohibida dentro de la Unión Europea en la Directiva 1831/2003/CEE (European Union, 2003) y esta tendencia se está expandiendo a diversos países del mundo, por lo que la búsqueda de alternativas a los suplementos antibióticos convencionales es una necesidad.

En este sentido, los extractos de plantas y las vitaminas ofrecen una oportunidad, ya que algunas especies de plantas producen metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, mientras que las vitaminas tienen efectos antioxidantes, las cuales pueden mejorar el rendimiento y la eficiencia alimenticia, evitando daños futuros a la salud de los consumidores derivados de los residuos de antibióticos, por lo tanto son una alternativa para optimizar los sistemas de producción animal (Ornaghi *et al.*, 2017).

## 1.2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.2.1 Condiciones climáticas y ganadería

El efecto del clima en la explotación de animales con fines de producción se ha estudiado desde hace décadas, lográndose dilucidar los aspectos fisiológicos y de comportamiento animal bajo condiciones de termoneutralidad y también de estrés climático (Arias *et al.*, 2008).

La variable temperatura ambiental ha sido la más investigada, y al mismo tiempo la más utilizada como indicador de estrés en los animales, seguida por la humedad relativa, la cual es un factor que potencia las condiciones de estrés en el ganado, ya que esta variable acentúa las condiciones de alta temperatura (Da Silva, 2006).

Por esta causa, un indicador que engloba ambos factores, temperatura y humedad, fue desarrollado por Thom (1959), originalmente para ser utilizado en seres humanos, y extrapolado posteriormente al ganado (Berry *et al.*, 1964). El índice de temperatura-humedad (ITH) ha sido en las últimas décadas un estándar contemplado en las prácticas de manejo del ganado (Khalifa, 2003; Gaughan *et al.*, 2007), existiendo a la fecha tablas y rangos que permiten predecir eventuales riesgos de estrés (Figura 1).

Cuadro 1. Valores ajustados de ITH a diferentes temperaturas y humedades relativas clasificadas de acuerdo a las categorías de carga de calor ambiental.

Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)					
	0	20	40	60	80	100
22	64	65	67	68	70	71
24	65	67	69	71	73	75
26	67	69	71	74	76	78
28	68	71	74	77	79	82
30	70	73	76	79	82	86
32	72	75	79	82	86	89
34	73	77	81	85	89	93
36	75	79	84	88	92	96
38	76	81	86	91	95	100
40	78	83	88	93	99	104
			Normal	Alerta	Peligro	Emergencia

El índice de temperatura-humedad se calcula mediante la fórmula:  $ITH = 0.81 \times T + HR (T - 14.40) + 46.40$  (Hahn, 1999), y se clasifica para la carga de calor ambiental como: Normal,  $<74$ ; Alerta,  $\geq 74$ ; Peligro,  $\geq 79$ ; y Emergencia  $\geq 84$  (Davis *et al.*, 2003).

### **1.2.1.1 Alta carga de calor ambiental en ganado bovino**

La alta carga de calor ambiental se desarrolla cuando la ganancia de calor total (efectos combinados de los factores ambientales y metabólicos del calor) excede las capacidades de pérdida de calor del animal, llevando a un aumento de las temperaturas corporales, trastornos del comportamiento y funciones fisiológicas deterioradas (Hahn y Becker, 1984).

La manifestación de estas condiciones, en la mayor parte de los casos, se presenta como cambios en los requerimientos de nutrientes, donde los requerimientos de agua y energía son los más afectados cuando el ganado se encuentra fuera de su zona de termoneutralidad (Conrad, 1985). Estos cambios en los requerimientos, aunado a los cambios conductuales como estrategia para enfrentar el período de estrés, provocan una disminución en el desempeño productivo.

Cuando el ganado es sometido a altas temperaturas ambientales ( $ITH >74$ ) se incrementan sus requerimientos de energía para el mantenimiento, adicionalmente se disminuye el nivel de consumo de materia seca y por consiguiente se modifican los patrones de fermentación ruminal, la ganancia diaria de peso se ve disminuida y en casos más extremos se puede presentar muerte del ganado (Hahn y Mader, 1997; Mader *et al.*, 1997; Plascencia, 2015).

Por otro lado, ocurren numerosos cambios fisiológicos en el sistema digestivo, química ácido-base y en la concentración de hormonas en sangre del ganado bovino durante la época del año en la cual las temperaturas suben y el clima es más cálido (West, 2003). Múltiples investigaciones apuntan a que las altas temperaturas deterioran la actividad de la glándula tiroides, afectando con esto la motilidad y la tasa de pasaje de los alimentos (NRC, 1981; Habeeb *et al.*, 1992).

Estos cambios en la actividad de la glándula tiroides son consistentes con la disminución en los valores de la tasa metabólica, consumo de alimento, crecimiento y producción de leche bajo condiciones de estrés por calor (Beede y Collier, 1986).



El ganado que es expuesto a altas temperaturas por períodos cortos disminuye su consumo de materia seca (CMS), sobre todo cuando son utilizadas dietas de alta densidad energética (Nienaber *et al.*, 2003). El efecto de las condiciones ambientales sobre el consumo voluntario de alimento ha sido bien documentado a través de los años (Ames, 1980; NRC, 1981; Beede y Collier, 1986; Mader, 2003), demostrando la relación inversa que existe entre la temperatura ambiental y el consumo voluntario de alimento. En un intento por ajustar sus demandas energéticas con su capacidad de perder calor durante las condiciones de alta carga de calor ambiental los animales reducen el CMS. Esta disminución es sin duda la mayor influencia en la disminución de la productividad del ganado.

En la fisiología del animal, los principales cambios observados son el aumento en la tasa de respiración, pulso, sudoración y vasodilatación. Un aumento en la tasa de respiración involucraría una mayor actividad muscular, lo que generaría una mayor producción de calor. Así, en el caso del jadeo, implica un aumento en los requerimientos de mantenimiento de aproximadamente un 7%, mientras que tasas de respiración más pausadas y profundas están asociadas con un incremento del 18% (NRC, 1981). Davis (2001) informa que el mayor costo energético no se debe precisamente al aumento en la actividad muscular, sino que responde a un incremento en el metabolismo celular.

Como medida para disminuir los efectos negativos del exceso de calor los animales también modifican su comportamiento habitual. Brown-Brandl *et al.* (2006) informaron que bajo condiciones de alta carga de calor ambiental los animales disminuyeron el tiempo que dedicaban a consumir alimento, así como también el tiempo que permanecían echados, y por otra parte, reportaron una reducción en la agresividad del ganado. Además, reportaron un aumento en el tiempo que el ganado destinaba a beber agua y el que permanecía de pie cerca de los bebederos. Es posible observar también cambios en la distribución del ganado dentro de los corrales, permaneciendo más tiempo en aquellos lugares con una mejor ventilación.

Por otro lado, la alta carga de calor ambiental ha sido implicada en originar estrés oxidativo a través de la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS)

o por la disminución de las defensas antioxidantes (Chauhan *et al.*, 2014). Las ROS son moléculas que contienen oxígeno con un electrón desapareado en su anillo externo. Micronutrientes como el zinc (Zn), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn) y selenio (Se) son componentes estructurales de algunas enzimas antioxidantes, las cuales tienen por función prevenir el daño celular causado por las ROS producidas de manera natural durante el metabolismo celular.

Las ROS no neutralizadas por enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo, lo cual puede provocar inflamación y muerte celular prematura, mientras que los fenómenos que aceleran el metabolismo celular, como las infecciones o el estrés por calor, aumentan el riesgo de estrés oxidativo (Singh *et al.*, 2009).

El estrés por calor es un enorme problema para la industria ganadera ya que disminuye el rendimiento de los animales durante los meses de verano, lo que conlleva pérdidas económicas. Las temperaturas altas afectan negativamente al estatus oxidativo del ganado y mejorar su capacidad antioxidante puede mitigar este daño (Chauhan *et al.*, 2014).

### **1.2.2 Estrategias para mitigar los efectos negativos de la alta carga de calor ambiental en ganado bovino**

La capacidad que tiene el ganado para hacer frente a las condiciones adversas del clima varía, y está influenciada por factores como la raza, edad, color del pelaje y piel, largo del pelaje y el estado nutricional.

Aunado a estas características propias del animal, el hombre ha diseñado un conjunto de acciones utilizadas para reducir las condiciones climáticas adversas, las cuales se conocen como estrategias de mitigación, las estrategias de mitigación térmica más utilizadas son: aumento de disponibilidad de agua y comedero, protección de radiación solar, modificaciones en los componentes de la dieta y regulación en las horas de alimentación, reducción en la densidad por corral, y más recientemente el uso de ventiladores y aspersores principalmente en ganado lechero (Nardone *et al.*, 2006; Collier *et al.*, 2009; Lambert, 2009). Estas estrategias buscan disminuir el efecto negativo que las condiciones climáticas ejercen sobre el ganado, sobre todo en

aquellas regiones donde la alta carga de calor ambiental es frecuente (Arias *et al.*, 2008).

#### **1.2.2.1 Acceso a fuentes de agua**

La ingestión de agua representa una de las formas más rápidas y eficientes por las que los animales reducen su temperatura corporal. Durante el periodo estival ésta es fácilmente duplicada con respecto al consumo de invierno, debido a sus propiedades físicas y químicas particularmente importantes para el proceso de manutención de temperatura corporal. Su elevado calor de evaporación permite al animal transferir una cantidad importante de calor al ambiente con bajos volúmenes a través de fluidos como la orina y el sudor (Arias *et al.*, 2008).

#### **1.2.2.2 Uso de sombra**

En los últimos años el uso de sombras ha sido una de las alternativas de mitigación que más atención ha recibido, ya que su uso ayuda a disminuir el impacto de la radiación solar directa e indirecta, y con ello reducir la carga de calor que los animales reciben. En consecuencia, aumenta la productividad tanto del ganado de leche como el ganado de carne en comparación con animales que son explotados bajo sistemas en los cuales no se lleva a cabo el uso de sombra. Collier *et al.* (2006) señalan que la reducción en la carga de calor con una sombra bien diseñada oscila entre 30 y 50%.

Sin embargo, la sombra no tiene efecto sobre la temperatura del aire o la humedad relativa, por lo que no permite eliminar por completo el problema del balance térmico (West, 2003; Collier *et al.*, 2006). Valtorta *et al.* (1996) y Valtorta y Gallardo (2004) realizaron estudios para evaluar el efecto del uso de sombra y mecanismos de refresco, tales como ventiladores, indicando diferencias en la producción de leche de un 12% y 5% respectivamente.

Por su parte, Castro *et al.* (2020) reportaron que el uso de ventiladores en combinación con sombra aumenta la ganancia diaria promedio y la eficiencia de la ganancia más que con la sombra sola. Estas mejoras no se asociaron a un mayor consumo de materia seca, sino más bien a una mejora del ITH ambiental sobre los requerimientos energéticos de mantenimiento.

### **1.2.2.3 Uso de aspersores**

En muchas engordas en corral y lecherías el uso de aspersores para refrescar al ganado es una práctica común. Se ha demostrado que el uso de estos mecanismos reduce la temperatura corporal, y que además existe una interacción entre el uso de aspersores y el horario de alimentación del ganado (Davis *et al.*, 2003). Sin embargo, el uso de aspersores causa un efecto secundario indeseable en las engordas en corral, ya que debido a que en este sistema el estiércol permanece en los corrales, la combinación de humedad y calor aumenta la emisión de malos olores.

### **1.2.2.4 Manejo alimenticio**

La implementación de estrategias nutricionales para disminuir los efectos negativos de la ACCA en la tasa de ganancia, la eficiencia energética y las características de la canal en el ganado de engorda ha tenido un papel importante desde hace años, sin embargo, el manejo alimenticio es quizás el principal desafío en las engordas a corral, debido a que los cambios bruscos en los horarios de servicio y de los componentes de la dieta pueden generar problemas como la acidosis y con ello disminuciones en la ganancia diaria de peso. Las recomendaciones van encaminadas a modificar el horario de entrega matutina de la ración por una entrega vespertina. Otra alternativa es ofrecer el 70% de la dieta dos a cuatro horas después de haber alcanzado la temperatura diaria máxima (Davis *et al.*, 2003), para que el calor metabólico generado durante la fermentación del alimento no exacerbe la temperatura corporal del animal.

Con respecto a los componentes de la dieta, diferentes ingredientes pueden ocasionar distintos incrementos de calor a pesar de tener concentraciones similares de energía. En particular, las grasas y aceites muestran el menor incremento de calor, seguido por los carbohidratos solubles como almidón (pero no los carbohidratos estructurales) y las proteínas. Se ha observado que la disminución del CMS o de la energía total en el ganado reduce la susceptibilidad al estrés por calor (Mader *et al.*, 1999).

Como respuesta a la alta carga de calor ambiental, la ingesta de alimento por parte de los animales disminuye para reducir la carga térmica, y con esto la eficiencia alimentaria se ve afectada, principalmente debido a la inducción de estrés oxidativo e inflamación, especialmente en el tracto gastrointestinal. Al mismo tiempo, aumenta la

producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conduce a la formación de productos oxidados del metabolismo de lípidos y proteínas, lo que daña los enterocitos al reducir la digestión y absorción de nutrientes. La inflamación local, que puede volverse sistémica debido al aumento de la permeabilidad intestinal, altera la utilización de nutrientes post-absorción y penaliza las funciones anabólicas (Sakkas, 2023).

Para disminuir los efectos estresantes de la ACCA, la incorporación de determinados aditivos alimenticios, aislados o combinados, en el alimento o el agua, se ha convertido en un área de interés en los sistemas ganaderos, ya que han demostrado que pueden mitigar parcialmente los efectos adversos de la alta carga de calor ambiental en el ganado. Entre estas soluciones aditivas se incluyen a los antibióticos, fitogénicos, vitaminas, microminerales y electrolitos (Kausar e Imran, 2024).

### **1.2.3 Aditivos alimenticios**

Un aditivo para la alimentación animal se refiere a aquellas sustancias, microorganismos y preparados (distintos de las materias primas para alimentos y de las premezclas), que se añaden de manera intencional a la ración o al agua en un nivel bajo de inclusión para influir favorablemente en: 1) las características de los alimentos o de los productos de origen animal, 2) las consecuencias ambientales de la producción, 3) los rendimientos productivos, el bienestar o la salud animal, mediante su influencia en el perfil de la microflora intestinal o la digestibilidad de los alimentos, o 4) por su efecto coccidiostático o histomonostático (Ravindran, 2010).

En términos generales, un aditivo alimentario se refiere a un producto incluido en la ración, el cual no aporta nutrientes *per se* y tiene como propósito mejorar la eficiencia de la producción, modificando alguna de las siguientes características: fermentación/absorción, digestión, metabolismo celular (Hutjens, 1991; Plascencia, 2015), e incluso mejorar el estado inmunológico del animal (Hulbert y Moisés, 2016), manteniendo el equilibrio entre producción y explotación del medio ambiente (Michalack *et al.*, 2021).

#### **1.2.3.1 Uso de antibióticos promotores de crecimiento**

Un antibiótico se considera un promotor de crecimiento cuando se administra en el alimento del ganado para promover el crecimiento y mejorar la eficiencia alimentaria.

Los agentes antimicrobianos utilizados como promotores de crecimiento abarcan varias clases de antibióticos con diferentes mecanismos de acción bactericidas o bacteriostáticos. Los promotores de crecimiento generalmente se administran en concentraciones relativamente bajas, que van desde 2.5 mg/kg a 125 mg/kg (ppm), dependiendo del tipo de fármaco y la especie animal. Las indicaciones del efecto beneficioso de los agentes antimicrobianos sobre la salud y la nutrición del huésped se informaron ya en 1946, y el uso de agentes antimicrobianos como aditivos alimenticios para el ganado sin prescripción fue aprobado por primera vez por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU. (FDA) en 1951. Posteriormente, el uso de promotores de crecimiento antimicrobianos en el ganado se ha convertido en una práctica común en todo el mundo, aumentando de 10 a 20 veces desde la década de 1950 (Brown *et al.*, 2017).

#### **1.2.3.1.1 Monensina sódica**

La monensina sódica es un antibiótico monovalente de poliéter ionóforo carboxílico producido por *Streptomyces cinnamonensis* que anteriormente se denominaba ácido monósico. Es utilizada en alimentación animal principalmente para promover el crecimiento y como "coccidiostáticos", en la prevención de la coccidiosis (Watanabe *et al.*, 1981; Dutta y Devriese, 1981a; Stipkovits *et al.*, 1987; Carson y Statham, 1993; Devriese *et al.*, 1993; Butaye *et al.*, 1998).

Se ha comercializado para el ganado como inhibidor de metano y potenciador de propionato (el AGV [gluconeogénico] más eficientemente utilizado) (Dinius *et al.*, 1976; Richardson *et al.*, 1976; Russell y Stroble, 1989). Otros de los beneficios del uso de monensina incluyen la reducción de la desaminación de las proteínas de la dieta, lo que da como resultado una menor eliminación urinaria de amoníaco (Russell y Stroble, 1989), y una disminución en la producción de ácido láctico (Dennis *et al.*, 1981) que resulta en una reducción de la acidosis ruminal (Russell y Stroble, 1989) y abscesos hepáticos (Nagaraja y Chengappa, 1998). La mayor disponibilidad de energía, así como la retención de nitrógeno optimizan la eficiencia de la utilización del alimento y, por ende, mejoran la productividad animal y la rentabilidad económica de la producción (Potter *et al.*, 1976; Russell y Stroble, 1989).

## Mecanismo de acción

Los ionóforos son sustancias altamente lipófilas capaces de interactuar estequiométricamente con iones metálicos, sirviendo así, como portadores mediante los cuales estos iones pueden transportarse a través de una membrana lipídica bimolecular (McGuffey *et al.*, 2001; Azzaz *et al.*, 2015).

El modelo desarrollado por Russell (1987) (figura 1) explica los efectos del uso de monensina sódica en el desarrollo de *Streptococcus bovis*, una bacteria ruminal grampositiva. El movimiento a través de las membranas biológicas se modifica porque están compuestas por una doble capa de lípidos. La monensina sódica, que es soluble en lípidos, protegerá y desplazará los iones cargados facilitando su movimiento a través de la membrana. El catión sodio ( $\text{Na}^+$ ) se encuentra en mayor concentración en el ambiente extracelular en comparación con el potasio ( $\text{K}^+$ ), aproximadamente de cuatro a cinco veces, y, a nivel intracelular, el  $\text{K}^+$  es el catión predominante.

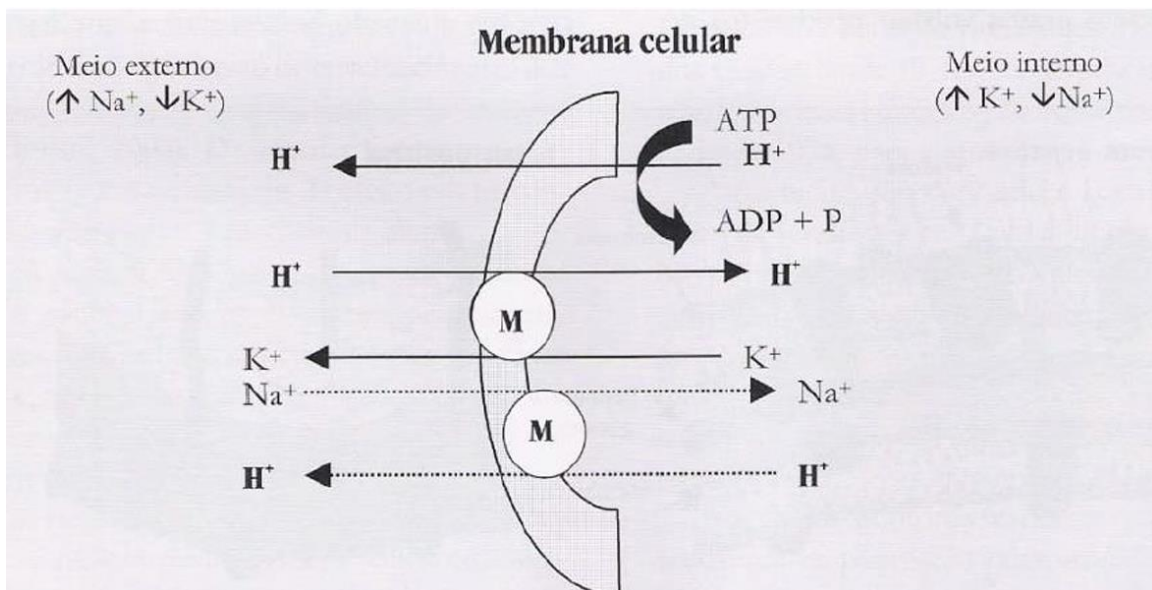


Figura 1. Efecto de la monensina (M) en el flujo de iones en *S. bovis* (Russell, 1987)

Cuando la monensina se une a la membrana celular, la primera reacción que se produce es la rápida salida de  $\text{K}^+$  y entrada de hidrógeno ( $\text{H}^+$ ) al interior de la célula, debido a la diferencia en el gradiente de concentración de  $\text{K}^+$ . El  $\text{H}^+$  acumulado en el interior de la célula provoca una reducción del pH, y la célula responde a la bajada del pH con una segunda reacción, exportando  $\text{H}^+$  al medio exterior y permitiendo la

entrada de sodio ( $\text{Na}^+$ ) al interior de la célula, un catión con mayor afinidad para monensina (Russell, 1987). El  $\text{H}^+$  se exporta a través de las bombas  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa y/o protones ATPasa, utilizando energía en este proceso (Bagg, 1997). Gran parte de la energía producida por la célula es utilizada por las bombas  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  y protones ATPasa, en un intento de mantener el pH y el equilibrio iónico celular, de modo que con el tiempo, la célula se vuelve incapaz de mantener su metabolismo energético, reduciendo su capacidad para el crecimiento y la reproducción, y termina muriendo o asumiendo un nicho microbiano sin expresión ruminal.

### **Uso de monensina sódica en alimentación de rumiantes**

Entre los aditivos que se han utilizado en raciones para rumiantes, destaca el uso de la monensina sódica, la cual actúa sobre la flora bacteriana del rumen, modificando la fermentación microbiana. La producción ruminal de metano disminuye un 30% con el tratamiento con monensina (Wedegaertner y Johnson, 1983; Russell y Stroble, 1989; Johnson y Johnson, 1995). Sin embargo, los metanógenos ruminales no son inhibidos directamente por la monensina, sino que las bacterias responsables de la alimentación cruzada de nutrientes ( $\text{H}_2$ ) a los metanógenos sí lo son (Van Nevel y Demeyer, 1977; Dellinger y Ferry, 1984). La tasa de producción de metano ruminal está directamente correlacionada con las concentraciones de  $\text{H}_2$  disuelto, por lo que una reducción del  $\text{H}_2$  (disuelto) da como resultado una reducción de la metanogénesis (Czerkawski y Breckenridge, 1972). Muchas de las bacterias productoras de acetato ruminal (p. ej., ruminococos, *Eubacterium*) son sensibles a la monensina; y debido a que la producción de acetato está vinculada a la eliminación de equivalentes reductores mediante metanogénesis, una disminución en la producción de acetato reduce aún más la producción de metano (Hegarty, 1999). Además, algunas bacterias productoras de acetato sensibles a la monensina también producen formiato y  $\text{H}_2$ , que sirven como sustratos adicionales para la metanogénesis ruminal (Chen y Wolin, 1979; Slyter, 1979; Russell y Stroble, 1989). La degradación del formiato por especies sensibles a la monensina a través de la enzima formiato liasa a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  también se reduce mediante el tratamiento con monensina, lo que limita aún más los sustratos disponibles para la metanogénesis (Van Nevel y Demeyer, 1977).



La producción de metano y AGV está estrechamente relacionada, por lo que la disminución de la producción de metano requiere la eliminación de equivalentes reductores a través de sumideros de electrones alternativos. El tratamiento con monensina aumenta la producción del AGV más reducido, el propionato (Dinius *et al.*, 1976; Richardson *et al.*, 1976; Van Nevel y Demeyer, 1977). Muchas bacterias ruminales productoras de propionato (p. ej., *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii*) no son inhibidas por la monensina (Callaway *et al.*, 1999). Las alteraciones en la población ruminal resultan en una disminución en la proporción de acetato a propionato (Ac:Pr), un sello distintivo de una mayor disponibilidad de energía para el animal (Russell y Stroble, 1989). El propionato es el AGV gluconeogénico y el animal lo utiliza más eficientemente que otros AGV, y la disminución en la relación Ac:Pr causada por la monensina aumenta la energía bruta disponible para el animal en un 5.6% (Richardson *et al.*, 1976). A pesar de los cambios observados en las proporciones de AGV, la producción total de AGV no se ve alterada por el tratamiento con monensina (Russell y Stroble, 1989).

Un beneficio adicional de la suplementación con monensina es el profundo impacto sobre la retención de nitrógeno ruminal (Russell y Stroble, 1989). La monensina disminuye en un 50% la degradación ruminal de los aminoácidos y la acumulación resultante de amoníaco, y este fenómeno se ha descrito como un efecto “ahorrador de proteínas” (Dinius *et al.*, 1976; Russell y Stroble, 1989; Yang y Russell, 1993b). Los aminoácidos en el rumen son fermentados por varias especies de bacterias ruminales (p. ej., *M. elsdenii*, prevotellas); sin embargo, las actividades específicas más altas de producción de amoníaco pertenecen a un grupo de bacterias ruminales (es decir, *Peptostreptococcus anerobius*, *Clostridium aminophilum*, *C. sticklandii*) que fermentan aminoácidos de forma obligada (Chen y Russell, 1991; Krause y Russell, 1996). Debido a sus altas actividades específicas de producción de amoníaco, se cree que las bacterias fermentadoras de aminoácidos obligados son capaces de desaminar más del 25% de la proteína en los alimentos (Krause y Russell, 1996). Estas bacterias fermentadoras de aminoácidos obligados son muy sensibles a la monensina (Callaway *et al.*, 1999) y su número puede reducirse 10 veces mediante el tratamiento con monensina (Yang y Russell, 1993a; Krause y Russell, 1996). Gran parte de la

disminución en la producción de amoníaco ruminal causada por la monensina se puede atribuir específicamente a los efectos inhibidores sobre las bacterias fermentadoras de aminoácidos obligados.

Cuadro 2. Resumen de las estimaciones del tamaño del efecto de la monensina sobre los resultados de rendimiento en el ganado en crecimiento y finalización (Duffield *et al.*, 2012)

Medidas de resultados	Diferencia de medias ponderada para el control de monensina (IC 95%) <sup>5</sup>	Cambio, %	Corrales o ganado por tratamiento	Pruebas	Tamaño del efecto <i>P</i>
CA <sup>1</sup> , kg	-0.53 (-0.61, -0.45)	-6.4	634	130	<0.001
CMS <sup>2</sup> , kg	-0.268 (-0.32, -0.21)	-3.1	854	151	<0.001
GDP <sup>3</sup> , kg/d	+0.0291 (0.019, 0.040)	+2.5	799	156	<0.001
EA <sup>4</sup> , kg	+0.0021 (-0.0001, 0.0043)	+1.3	186	32	0.048

<sup>1</sup>CA=Conversión alimenticia; <sup>2</sup>CMS=Consumo de materia seca; <sup>3</sup>GDP=Ganancia diaria de peso; <sup>4</sup>EA=Eficiencia alimenticia; <sup>5</sup>La diferencia de medias ponderada es la estimación del efecto real del tratamiento en unidades de medida; IC=Intervalo de confianza

El tratamiento con monensina reduce la morbilidad y la mortalidad entre los animales de engorda al reducir la incidencia de acidosis ruminal aguda y subaguda, timpanismo y enfisema bovino (Galyean y Owens, 1988). Los carbohidratos de la dieta se fermentan rápidamente en el rumen, lo que puede resultar en una acumulación de ácido láctico, lo que resulta en un pH ruminal reducido, disfunción ruminal y acidosis (Nagaraja *et al.*, 1982; Burrin y Britton, 1986; Russell y Rychlik, 2001). La acidosis ruminal se asocia con una ingesta reducida de alimento, una menor eficiencia alimenticia y una alimentación cíclica, así como con la muerte de algunos animales. La monensina reduce la acidosis al inhibir directamente las bacterias productoras de lactato (p. ej., *Streptococcus bovis*, *Lactobacilli*) (Dennis *et al.*, 1981). El timpanismo es un problema grave de producción animal que ocurre cuando los gases de fermentación se retienen en el fluido ruminal en lugar de eructar, a menudo debido a un aumento en la viscosidad de los fluidos ruminales, lo que resulta en una acumulación de gas que causa una “hinchazón” del rumen que pueden asfixiar al animal (Bartley *et al.*, 1983; Katz *et al.*, 1986). Los efectos anti-hinchazón de la monensina están mediados por una inhibición directa de las bacterias encapsuladas (“productoras de limo”), así como por

una disminución en la producción general de gases ruminales (Galyean y Owens, 1988). El enfisema bovino es otro problema costoso para la industria ganadera causado por los eructos de 3-metilindol (escatol), un subproducto de la fermentación del L-triptófano, que puede ser inhalado por el animal y causar asfixia. La monensina inhibe directamente los lactobacilos productores de escatol (Honeyfield *et al.*, 1985).

Debido a los cambios anteriores en la fermentación ruminal, la inclusión de monensina mejora la eficiencia alimenticia y la salud general del ganado de engorda (Goodrich *et al.*, 1984).

### **1.2.3.1.2 Virginiamicina**

La virginiamicina es un antibiótico estreptogramínico producido por *Streptomyces virginiae*, el cual tiene una actividad bacteriostática y bactericida frente a la mayoría de las bacterias grampositivas y algunas gramnegativas, como *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Campylobacter spp.*, *Listeria spp.*, clamidia (*C. trachomatis*, *C. pneumoniae*) y micoplasma (*M. pneumoniae*) (Grozina *et al.*, 2014).

Además de la actividad antimicrobiana, la virginiamicina también actúa como promotor del crecimiento, ya que optimiza la absorción y el metabolismo de los nutrientes, mejora el estado del epitelio del intestino delgado e inhibe la síntesis de toxinas y metabolitos nocivos por parte de los organismos intestinales (Feighner y Dashkevicz, 1987; Cervantes *et al.*, 2002; Hoyzman *et al.*, 2011).

Hoy en día, la virginiamicina se usa ampliamente en la producción del combustible etanol (Arshad *et al.*, 2011) y como aditivo antibiótico para la alimentación de ganado y aves de corral, lo que proporciona una mejor supervivencia de animales jóvenes, una menor tasa de enfermedad, un aumento de peso corporal y una mejor eficiencia nutricional (Ives *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2008; Shojadoost *et al.*, 2013).

### **Mecanismo de acción**

El mecanismo de acción de la virginiamicina se centra en la combinación de sus dos componentes (factores M1 y S1), los cuales actúan uniéndose al ARNr bacteriano 23S de la subunidad ribosómica 50S para formar un complejo que inhibe irreversiblemente la síntesis de proteínas, lo que resulta en la muerte celular bacteriana.

Individualmente, los componentes solo causan bacteriostasis (Cocito *et al.*, 1997). El factor M1 inhibe la fase de elongación en el ensamblaje ribosómico de las proteínas (Cocito *et al.*, 1974). Interfiere con la función de la peptidiltransferasa y también desencadena un cambio conformacional en el ribosoma, lo que aumenta la afinidad por los componentes del factor S1 (Bouanchaud, 1997). El factor S1 impide la extensión de polipéptidos (elongación de la cadena peptídica) e induce el desprendimiento de cadenas proteicas incompletas (Chinali *et al.*, 1988).

### **Uso de virginiamicina en alimentación de rumiantes**

Cualquier efecto que pueda tener la virginiamicina sobre la fermentación ruminal está relacionado con cambios en las poblaciones de especies bacterianas y protozoarias que habitan el rumen. Nagaraja y Taylor (1987) demostraron la susceptibilidad y resistencia de bacterias ruminales cultivadas *in vitro* en presencia de varios aditivos, incluida la virginiamicina. En general, los microorganismos que producen ácido láctico, ácido butírico, ácido fórmico e hidrógeno son susceptibles a la virginiamicina, y las bacterias que producen ácido succínico o fermentan el ácido láctico son resistentes. La virginiamicina ha demostrado ser muy eficaz en la inhibición de microorganismos productores de ácido láctico (p. ej., *Lactobacillus* y *Streptococcus*) sin interferir en el crecimiento de microorganismos consumidores de ácido láctico como *Megasphaera elsdenii*.

*Fusobacterium necrophorum* es un agente etiológico importante de los abscesos hepáticos en el ganado (Kanoë *et al.*, 1976; Berg y Scanlan, 1982; Scanlan y Hathcock, 1983; Lechtenberg *et al.*, 1988). El daño causado al hígado resulta en pérdidas debido a la reducción del aumento de peso diario y al decomiso de cortes y despojos de carne bovina (Foster y Wood, 1970). La virginiamicina es eficaz en el control de este patógeno (Lechtenberg *et al.*, 1988).

La acción de la virginiamicina sobre la producción de ácidos grasos de cadena corta está bien descrita en varios estudios *in vitro* (Nagaraja y Taylor, 1987; Clayton *et al.*, 1999) e *in vivo* (Coe *et al.*, 1999; Hill *et al.*, 2002) en ganado lechero.

Cuando los rumiantes se alimentan con dietas ricas en energía, el efecto principal de la virginiamicina es la concentración de ácido láctico en el rumen. Las dietas ricas en

azúcares y almidones, así como las basadas en cereales o vegetales, contienen una gran cantidad de carbohidratos altamente fermentables en el rumen. En estas condiciones, bacterias como *Streptococcus bovis* crecen rápidamente, provocando una gran producción de ácidos orgánicos, principalmente d-lactato, y consecuentemente reduciendo el pH ruminal. Con la reducción del pH, se desencadena la proliferación de varias especies bacterianas de *Lactobacillus*. *Lactobacillus* es altamente eficiente para la producción de ácido láctico, lo que reduce aún más el pH ruminal, haciendo que el rumen sea más ácido. Por lo tanto, una rápida introducción de alimentos altamente fermentables puede resultar en acidosis causada por el exceso de producción de ácidos orgánicos en el rumen y la posterior reducción del pH (Britton y Stock, 1986). Asimismo, la alteración repentina de los niveles de concentrado en la dieta puede causar rumenitis, predisponiendo a los animales a otros problemas como laminitis y abscesos hepáticos durante el período de alimentación (Brent, 1976).

A niveles de pH normales, las bacterias ruminales son capaces de convertir el ácido láctico en energía utilizable en forma de ácidos grasos de cadena corta. Cuando el pH desciende por debajo de 5.8, esta actividad se inhibe y el ácido láctico se acumula. La acumulación de ácido láctico en el rumen y la consiguiente reducción del pH disminuye el consumo de alimento por parte del animal, lo que resulta en pérdidas de rendimiento productivo de la leche o la carne y una baja eficiencia alimentaria (Slyter, 1976).

La virginiamicina es activa contra *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus ruminis*, previniendo el desarrollo de niveles dañinos de ácido láctico en el rumen (Muir y Barreto, 1979; Dutta y Devriese, 1981b; Nagaraja y Taylor, 1987). Boselli (1993) evaluó el efecto de la virginiamicina *in vivo* sobre el pH y la concentración de ácido láctico ruminal en novillas de 500 kg de PV. Estos animales fueron suplementados con 0, 75, 150 o 250 mg de virginiamicina al día y fueron equipados con una fístula para la recolección de líquido ruminal a las 0, 2 y 4 h después de la alimentación. Los animales fueron alimentados con una dieta rica en almidón (a base de cebada) para crear un desafío de acidosis. En este estudio, la suplementación con virginiamicina aumentó significativamente el pH ruminal y la ingesta en respuesta a la reducción de la concentración de ácido láctico.

Además de reducir la concentración de ácido láctico en el rumen, la suplementación con virginiamicina cambia positivamente la producción de otros ácidos orgánicos, especialmente ácido propiónico en el ganado de carne (Hedde *et al.*, 1980; Van Nevel *et al.*, 1984). Hill *et al.* (2002) observaron un aumento en la producción de ácido acético cuando se añadió virginiamicina a la alimentación de vacas lecheras lactantes alimentadas con una dieta basada en ensilaje de maíz.

Coe *et al.* (1999) evaluaron el efecto de la suplementación con virginiamicina sobre los patrones de fermentación y la microbiota ruminal de ganado de engorda sometido a una rápida adaptación a una dieta rica en cereales. Los animales que fueron suplementados con virginiamicina durante el período de transición, que pasó de 100% forraje a 100% concentrado en 8 días, lograron mantener poblaciones de *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus bovis* y *Fusobacterium necrophorum* 5 y 40 veces más pequeñas, respectivamente.

La reducción de la población de estos microorganismos disminuyó el riesgo de acidosis en los animales durante el período experimental ya que la concentración de lactato en el rumen también disminuyó, y también redujo la prevalencia e incidencia de abscesos hepáticos debido al control del principal agente etiológico del trastorno, *F. necrophorum*.

### **1.2.3.2 Situación actual del uso de antibióticos como aditivos alimenticios**

Si bien, a lo largo de los años los antibióticos se han utilizado en la producción animal de alimentos para el tratamiento y prevención de enfermedades, así como también con fines no medicinales, por ejemplo, como potenciadores del rendimiento alimentario y promotores del crecimiento, su uso ha sido predominantemente relacionado con ganancias económicas (Durso y Cook, 2014) debido a los beneficios que producen en indicadores fisiológicos, productivos y de salud, los cuales permiten disminuir los costos e incrementar la eficiencia en los sistemas productivos.

No obstante, a pesar del beneficio económico que supone el uso de este grupo de aditivos alimenticios, los cambios en el patrón de consumo global, así como el incremento de las regulaciones comerciales, recientes restricciones gubernamentales y la prohibición del uso de promotores del crecimiento y antimicrobianos en las dietas

para animales en la Unión Europea y los Estados Unidos (Shurson, 2018), han aplicado una fuerte presión para encaminar a la ganadería hacia el concepto “Limpio, Verde y Ético” (CGE por sus siglas en inglés), en dicho concepto, “limpio” significa un uso reducido de sustancias químicas sintéticas (antibióticos, hormonas, etc.) y apoya particularmente la idea de reducir la resistencia a los antibióticos, mientras que “verde” hace referencia a la reducción del impacto ambiental negativo y “ético” se refiere a buscar mejoras en el bienestar animal (Stevanović *et al.*, 2018).

El objetivo anterior se ha logrado paulatinamente con el uso de aditivos alternativos o nutracéuticos; dichos aditivos pueden tener efectos farmacéuticos y/o metabólicos que presenten beneficios en la salud del ganado y el comportamiento productivo (Castro *et al.*, 2021). Algunos ejemplos que han mostrado resultados positivos son: probióticos, prebióticos, aceites esenciales, vitaminas, entre otros (Pandey *et al.*, 2019).

### **1.2.3.3 Uso de aditivos alternativos**

Después de las medidas tomadas con respecto a la prohibición del uso de antibióticos promotores de crecimiento como aditivos alimenticios, se generó una problemática de difícil solución en la práctica. Esto debido a que la utilización de múltiples aditivos, entre ellos los antibióticos, además de justificarse por razones económicas tiene en muchos casos una justificación razonable debido al incremento en la eficiencia de los procesos metabólicos y en la salud de los animales (Caja *et al.*, 2003).

El reto actual del sector ganadero y de la industria de alimentos, es: 1) lograr hacer rentables los sistemas de producción más extensivos, que no hagan necesario el uso de los antiguos aditivos que podían suponer un riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente, o 2) conseguir efectos semejantes con el uso de productos naturales, nuevos y sin riesgo para la salud pública. Recientemente, la industria de la alimentación animal ha utilizado los eubióticos como sustitutos de los antibióticos como promotores del crecimiento. Los eubióticos se utilizan principalmente para mantener la eubiosis gastrointestinal en los animales de granja para mejorar el estado de salud y el rendimiento. Dhama *et al.* (2014) revisaron en detalle los beneficios del uso de promotores del crecimiento no antibióticos (eubióticos), incluido el uso de aceites esenciales, vitaminas, probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, enzimas exógenas,

entre otros, y concluyeron que ofrecen alternativas viables a los antibióticos como promotores del crecimiento.

#### **1.2.3.3.1 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales (AE) o aceites volátiles son líquidos aceitosos aromáticos extraídos por destilación de partes de plantas, como flores, capullos, semillas, hojas, ramitas, corteza, madera, frutos y raíces (Miguel, 2010). Son extractos volátiles al vapor o de solventes orgánicos (etanol, metanol, tolueno u otros solventes orgánicos) y se han utilizado tradicionalmente durante muchos siglos en varias partes del mundo. Se considera que tienen un sabor y aroma agradables, así como propiedades conservantes. Algunos componentes específicos de los AE pueden extraerse de partes de plantas o fabricarse sintéticamente.

Los AE suelen contener una gran cantidad de diferentes compuestos, como terpenos, alcoholes, acetonas, fenoles, ácidos, aldehídos y ésteres (Negi, 2012). Estas sustancias pueden ejercer una función protectora contra ataques de bacterias, hongos o insectos. En consecuencia, los AE pueden considerarse aceites naturales, complejos y de múltiples componentes (Brenes y Roura, 2010). Los AE reciben su nombre según las características aromáticas de los materiales vegetales de los que se pueden aislar.

El término "esencial" fue adaptado de la teoría de la "quinta essentia", sugerida por primera vez en el siglo XVI por Paracelso von Hohenheim, quien creía que "esta quinta esencia era el elemento eficaz en una preparación médica" (Oyen y Dung, 1999). El término "aceite esencial" puede considerarse un término mal definido, un subproducto de la farmacia medieval y, por esta razón, se ha propuesto el término "aceite volátil" como alternativa (Hay y Waterman, 1993). Sin embargo, el primer término "aceite esencial" se utiliza con mayor frecuencia.

La composición individual de los AE es variable. Por ejemplo, se puede encontrar una variación distinta en el AE del orégano que se extrae de *Origanum vulgare ssp. hirtum* mediante destilación al vapor, y que está compuesto por 30 o más ingredientes, principalmente compuestos fenólicos con actividades variables (Lawrence y Reynolds, 1984; Sivropoulou *et al.*, 1996; Adam *et al.*, 1998). Los componentes principales son carvacrol y timol, que constituyen aproximadamente el 78-82% del aceite total (Adam



*et al.*, 1998), siendo el carvacrol el componente principal en la mayoría de los casos, aunque a veces sólo se puede encontrar en trazas (Sivropoulou *et al.*, 1996).

Los otros constituyentes principales también pueden tener concentraciones variadas. Las propiedades farmacéuticas de las plantas aromáticas podrían atribuirse principalmente a las sustancias fenólicas y polifenólicas que se encuentran en ellas. Se han identificado más de 8,000 polifenoles, de los cuales más de 2,000 se encuentran en la naturaleza.

Los compuestos polifenólicos desempeñan un papel central en las plantas, ya que son necesarios para la pigmentación, el crecimiento, la reproducción, la resistencia a patógenos y hongos y muchas otras funciones. Los flavonoides son uno de los grupos más importantes de polifenoles. Estos flavonoides se pueden dividir en flavonas/flavononas, antocianinas y catequinas/flavonoles. En el material vegetal, los flavonoides se pueden encontrar en forma de complejos con diversos azúcares, llamados glúcidos. Las flavonas/flavononas se han aislado de la mayoría de las verduras y frutas y, por lo general, se encuentran en las capas externas en mayor concentración (Orzechowski *et al.*, 2002).

En la alimentación animal, estos extractos se han posicionado recientemente como una de las principales alternativas para disminuir el uso de aditivos tradicionales en las explotaciones pecuarias (Torres *et al.*, 2020). A pesar de la poca información existente es conocido que estos extractos poseen efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antimicrobianos, además, favorecen la inmunidad de los animales y pueden mejorar algunas características de digestión y fermentación ruminal (incrementa el uso de las proteínas, reduce la producción de amoníaco y metano, aumenta la producción de AGV's y mejora la proporción acetato: propionato), beneficiando el comportamiento productivo (Akram *et al.*, 2021).

### **Mecanismo de acción**

Los aceites esenciales tienen una gran variedad de efectos sobre la salud, incluyendo efectos positivos sobre enfermedades cardiovasculares, algunos tumores, procesos inflamatorios y, en general, enfermedades en las que la proliferación descontrolada de radicales libres es muy dañina (Harborne y Williams, 2000; Reddy *et al.*, 2003; Trouillas

*et al.*, 2003). Estas propiedades dependen de su capacidad para eliminar los radicales libres, inhibir la peroxidación de los lípidos de membrana, quelar metales y estimular la actividad de las enzimas antioxidantes (Gutiérrez *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003). Sin embargo, las actividades más importantes de estos compuestos son como antisépticos y antimicrobianos.

Las propiedades antisépticas de muchas plantas se conocen desde la antigüedad. Los chinos comenzaron a usar plantas en terapias medicinales hace 5,000 años, y en 1550 a.C., los egipcios usaron plantas para la conservación de alimentos y en ceremonias de momificación (Davidson y Naidu, 2000). Sin embargo, las primeras evidencias científicas que describen sus propiedades antimicrobianas no aparecieron hasta principios del siglo XX (Hoffmann y Evans, 1911). Desde entonces, se han estudiado muchos compuestos de aceites esenciales con fuertes actividades antimicrobianas (Burt, 2004).

Los terpenoides y fenilpropanoides desarrollan su acción contra las bacterias a través de la interacción con la membrana celular (Griffin *et al.*, 1999; Davidson y Naidu, 2000; Dorman y Deans, 2000). Al menos parte de esta actividad se debe a la naturaleza hidrofóbica de los hidrocarburos cíclicos, que les permite interactuar con las membranas celulares y acumularse en la bicapa lipídica de las bacterias, ocupando un espacio entre las cadenas de ácidos grasos (figura 2) (Sikkema *et al.*, 1994; Ultee *et al.*, 1999). Esta interacción provoca cambios conformacionales en la estructura de la membrana, lo que resulta en su fluidificación y expansión (Griffin *et al.*, 1999). La pérdida de estabilidad de la membrana da como resultado la fuga de iones a través de la membrana celular, lo que provoca una disminución en el gradiente iónico transmembranal. En la mayoría de los casos, las bacterias pueden contrarrestar estos efectos mediante el uso de bombas iónicas y no se produce la muerte celular, sino que se desvían grandes cantidades de energía a esta función y se ralentiza el crecimiento bacteriano (Griffin *et al.*, 1999; Ultee *et al.*, 1999; Cox *et al.*, 2001).

En general, la actividad antimicrobiana es mayor en los hidrocarburos cíclicos oxigenados, y particularmente en estructuras fenólicas como el timol y el carvacrol, en las que el grupo hidroxilo y los electrones deslocalizados permiten la interacción con el

agua a través de puentes de hidrógeno como principal sitio activo, lo que los hace particularmente activos contra microorganismos (Griffin *et al.*, 1999; Davidson y Naidu, 2000; Dorman y Deans, 2000; Cox *et al.*, 2001).

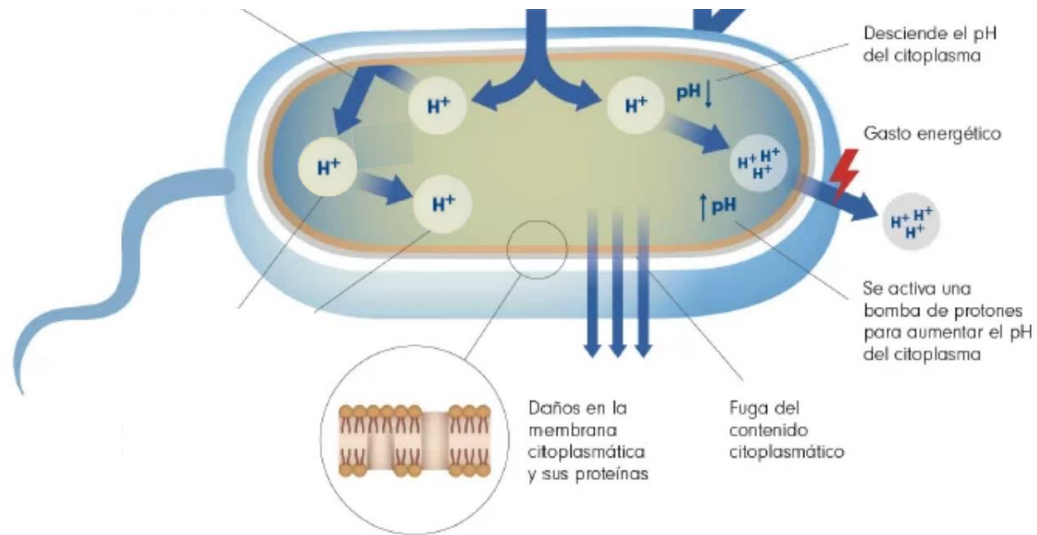


Figura 2. Mecanismo antibacteriano general de los aceites esenciales

Ultee *et al.* (2002) propusieron un mecanismo alternativo en el que el grupo hidroxilo de los fenoles actúa como transportador transmembrana de cationes y protones monovalentes, como los antibióticos ionóforos. También observaron que esta hipótesis era cierta solo en los grupos hidroxilo de los compuestos aromáticos, porque compuestos como el mentol (exactamente igual al carvacrol pero no aromático) no producen los mismos efectos inhibidores. Esto se debe probablemente a la presencia de un sistema de electrones dislocado y a la alta acidez de los fenoles y, en consecuencia, a la capacidad del grupo hidroxilo para liberar su protón.

Aunque la acción principal de los aceites esenciales como antimicrobianos parece estar centrada en su actividad sobre la membrana celular, este no es el único mecanismo de acción. Gustafson y Bowen (1997) informaron del potencial de los aceites esenciales para coagular algunos constituyentes celulares, probablemente por desnaturalización de proteínas. Numerosos estudios también han informado de la capacidad de algunos compuestos fenólicos y no fenólicos de los aceites esenciales para interactuar con grupos químicos de proteínas y otras moléculas biológicamente activas, como las enzimas (Juven *et al.*, 1994). En general, los fenoles interactúan con

las proteínas a través de puentes de hidrógeno e interacciones iónicas o hidrofóbicas (Prescott *et al.*, 2004), mientras que los compuestos no fenólicos interactúan a través de otro grupo funcional, como el grupo carbonilo del cinamaldehído (Ouattara *et al.*, 1997). Otros compuestos aldehídos también pueden interactuar con ácidos nucleicos y proteínas, lo que resulta en su inactivación, probablemente usando puentes cruzados o por alquilación (Prescott *et al.*, 2004).

De acuerdo con Nehme *et al.* (2021), el efecto anti-inflamatorio se debe a la interacción de los aceites esenciales con las citocinas de señalización, los factores de transcripción reguladores y la expresión de genes pro-inflamatorios, el mecanismo de acción puede ser directo en una reacción inmuno-estimuladora a través de algunos mecanismos tales como:

-Hiperemia: acelera el reclutamiento de leucocitos, favoreciendo las reacciones anti-inflamatorias (citral, citronelal y cuminal).

-Bloqueo de la síntesis y secreción de mediadores de la inflamación (histamina, citocinas pro-inflamatorias, prostaglandinas, leucotrienos, óxido nítrico, radicales libres) actuando así a diferentes niveles de actividad anti-inflamatoria.

Los mecanismos antioxidantes de los aceites esenciales se basan tanto en su capacidad para donar un hidrógeno o un electrón a los radicales libres, como en su capacidad para deslocalizar el electrón desapareado dentro de la estructura aromática (Giannenas *et al.*, 2013; Simitzis, 2017), protegiendo otras moléculas biológicas contra la oxidación.

### **Uso de aceites esenciales en alimentación de rumiantes**

Los efectos positivos de la suplementación de aceites esenciales sobre la digestibilidad del alimento se dan principalmente por dos razones; primero, la degradación de la proteína en el rumen se reduce al inhibir la proliferación de bacterias productoras de nitrógeno amoniacal o proteolíticas, y segundo, la degradación del almidón se reduce como respuesta a la inhibición de microorganismos amilolíticos, favoreciendo con esto la cantidad que fluye de estos dos nutrientes al intestino (Hart *et al.*, 2008).

En muchos de los estudios la digestibilidad del alimento no se modificó por la suplementación de aceites esenciales (Malecky *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010). Sin embargo, un estudio por Kozelov *et al.* (2001) mostró que dosis de 500 mg de aceite de orégano en ovinos resulta en una alta concentración de proteína a nivel ruminal, aunque por otro lado se afectó la digestibilidad total de nutrientes. Yang *et al.* (2007) reportaron que en un estudio llevado a cabo *in vivo* con vacas lecheras utilizando una dosis de aceite esencial de enebro de 2 g/d, mostraron un aumento del 13% en la digestibilidad de la materia seca utilizando dietas con una relación forraje-concentrado de 40:60; estos investigadores explican que el efecto puede ser debido a que se incrementó la digestibilidad de la proteína de manera significativa (11%), pero también puede deberse a un ligero incremento de digestibilidad de otros nutrientes. Sin embargo, aceites esenciales en dosis altas disminuyen la digestibilidad de la materia seca, atribuible a la disminución a nivel ruminal de la digestibilidad de la fibra (Beauchemin *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010).

Se ha informado que al adicionar aceites esenciales en la alimentación de rumiantes se disminuyen las concentraciones de nitrógeno amoniacal en el rumen, y consecuentemente la excreción urinaria y fecal del mismo. En uno de los primeros trabajos *in vitro*, Borchers (1965) observó una disminución en la producción de nitrógeno con la adición de 1 g/L de timol, al usar como sustrato la caseína y evaluando la acumulación de aminoácidos y la concentración de nitrógeno amoniacal en el medio ruminal, reportando también una disminución en la desaminación bacteriana.

En otro estudio, Broderick y Balthrop (1979) reportaron resultados similares sobre la inhibición en la desaminación y concentraciones de nitrógeno amoniacal. Por otro lado, McIntosh *et al.* (2003) observaron una disminución de la desaminación de un 9% al adicionar 1 g/d de una mezcla comercial de aceites esenciales incubando *in vitro* caseína hidrolizada durante 48 h con líquido ruminal colectado de vacas alimentadas a base de ensilado de maíz.

Otro estudio reportó una disminución de 24% en la desaminación cuando se incubó *in vitro* caseína hidrolizada por 24 h con líquido ruminal obtenido de ovinos

suplementados con una dosis de 110 mg/d de una mezcla de aceites esenciales, deduciendo el efecto negativo de los aceites esenciales sobre poblaciones selectivas de bacterias ruminales, principalmente (Newbold *et al.*, 2004).

Al utilizar mezclas de aceites esenciales se ha observado también una disminución en las bacterias generadoras de nitrógeno amoniacal (*Clostridium sticklandii* y *Peptostreptococcus anaerobius*) (McIntosh *et al.*, 2003). A pesar de los resultados observados en las pruebas *in vitro*, estudios *in vivo* no han encontrado cambios a favor en el flujo de nitrógeno al intestino en vacas productoras de leche y ovinos cuando se usan dosis de 2 g y 110 mg de mezcla de aceites esenciales, respectivamente (Newbold *et al.*, 2004; Benchaar *et al.*, 2006).

Benchaar *et al.* (2007) observaron que al adicionar altas concentraciones de extractos de clavo e hinojo existe una disminución en la actividad de las enzimas carboximetilcelulasa y xilasa. Al evaluar *in vivo* en ovinos dialil disulfido, y lovastatina como inhibidores de metano, con dosis de 4 y 80 mg/kg de materia seca, se observaron diferencias en la digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN), tendiendo a incrementarse con dialil disulfido en un 14% (Kelvenhusen *et al.*, 2011a). En otro estudio *in vivo* con ovinos se evaluó el efecto del aceite de ajo y su componente principal el dialil disulfido en dosis de 2 y 5 g/kg de materia seca, encontrando mejoras en la digestibilidad de materia orgánica y FDN en un 5.63 y 17.64, respectivamente (Kelvenhusen *et al.*, 2011b). Sin embargo, con la adición de polvo de ajo y aceite de ajo en la alimentación de ovinos, se encontró que la digestibilidad de la fibra detergente acida y FDN fueron ligeramente afectadas de forma negativa con el polvo, no así con el aceite, a dosis de 75 y 100 g/kg de materia seca (Anassori *et al.*, 2011).

Al igual que en muchos otros casos, la respuesta de la adición de aceites esenciales en dietas para rumiantes sobre el consumo depende también del tipo de aceite esencial y la dosis. Varios estudios realizados con 0.75 y 2 g/d de mezcla de aceites esenciales (Benchaar *et al.*, 2006; Benchaar *et al.*, 2007), 2 g/d de aceite de hinojo en vacas (Yang *et al.*, 2007), 250 mg/d de aceite de orégano en ovinos (Wang *et al.*, 2009), y 43 o 430 mg/kg de materia seca en cabras (Malecky *et al.*, 2009) no mostraron diferencias en el consumo. En otros estudios con altas dosis de cinamaldehído 500

mg/d en vacas productoras de leche (Busquet *et al.*, 2003) mezcla de cinamaldehído 500 mg/d y eugenol 90 mg/d en bovinos productores de carne (Cardozo *et al.*, 2006), se observó afectado el consumo de alimento, lo cual puede ser atribuido a la palatabilidad que adquieren los diferentes tipos de alimentos para el ganado cuando se les adicionan cantidades altas de aceites esenciales. En contraste, la adición de aceite de pimienta de 1 mg/d en concentrado en ganado productor de carne estimuló el consumo y la fermentación ruminal (Cardozo *et al.*, 2006). Otro estudio demostró claramente que el cinamaldehído tiene efecto positivo en el consumo de alimento en 10.3% con dosis bajas de 400 mg/d, pero que dosis altas de 1.6 g/d el consumo se mantiene igual en comparación con el tratamiento control en novillos (Yang *et al.*, 2010).

Cuadro 3 Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en bovinos productores de carne, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo

Tratamiento	Dosis g/d	CMS (%)	GDP (%)	Producción de metano <sup>1</sup> (%)	AGVs totales (%)	Referencia
MAE	1.09	-1.65	3.97	ND	ND	Meyer <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.0	13.95	ND	-13.83	14.65	Meyer <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.0	2.32	ND	-9.86	8.69	Meyer <i>et al.</i> (2009)
Cinamaldehído	0.4	10.30	ND	-10.21	2.71	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinamaldehído	0.8	4.12	ND	-3.09	1.64	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinamaldehído	1.6	-10.30	ND	-8.91	3.07	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinamaldehído	0.4	8.22	4.16	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Cinamaldehído	0.8	5.01	-1.78	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Cinamaldehído	1.6	-2.44	-2.38	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Eugenol	0.4	1.59	ND	ND	-1.06	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )
Eugenol	0.8	4.99	ND	ND	-4.66	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )
Eugenol	1.6	2.55	ND	ND	-6.14	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )
MAE	1.0	-2.41	-6.84	-1.72	-3.51	Beauchemin <i>et al.</i> (2009)
Cinamaldehído	0.27	-17.04	ND	9.77	-2.61	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de anís	2.0	5.6	ND	-12.69	0.25	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de pimienta	1.0	9.21	ND	-11.67	-0.38	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Cinamaldehído	0.9	2.63	ND	-11.34	-1.41	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de pimienta	0.5	10.66	ND	-1.10	-0.53	Fandiño <i>et al.</i> (2008)
Aceite de anís	0.5	2.66	ND	-4.65	-1.59	Fandiño <i>et al.</i> (2008)

MAE= Mezcla de aceites esenciales; CMS= Consumo de materia seca; GDP= Ganancia diaria de peso; AGVs= Ácidos grasos volátiles; ND= No determinado; <sup>1</sup> = CH<sub>4</sub> = 0.45 (acetato) – 0.275 (propionato) + 0.4 (butirato) (Moss *et al.*, 2000)

Adaptado de Polin *et al.* (2014)

En un estudio en donde se evaluó la ganancia diaria de peso en ovinos con la inclusión de 144 o 280 mg/kg de materia seca de hojas de orégano en la dieta, no se observaron diferencias con respecto al tratamiento control (Bampidis *et al.*, 2005); al igual que en

estudios realizados con bovinos productores de carne, utilizando una dosis de 2 o 4 mg/d de una mezcla de aceites esenciales (timol, eugenol, vainillina y limoneno), pero se observó un efecto cuadrático sobre la conversión alimenticia con dosis de 2 g/kg de materia seca (Benchaar *et al.*, 2006). Otros estudios tampoco encontraron diferencias con la inclusión del aceite esencial sobre el promedio de ganancia diaria de peso (Chaves *et al.*, 2008).

### **1.2.3.3.2 Vitamina D3**

La vitamina D es una vitamina liposoluble que está presente en dos formas principales, D2 y D3. La vitamina D2 se sintetiza por la acción de la radiación ultravioleta B (UVB) sobre el ergosterol en hongos y levaduras (a menudo se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas) y se consume a partir de una dieta basada en plantas. La vitamina D3 se sintetiza en la piel de los seres humanos y de algunos animales por la acción de la radiación UVB (280-320 nm) sobre el 7-dehidrocolesterol (7DHC), o puede consumirse a partir de productos animales (Jäpelt y Jakobsen, 2013; Bikle, 2014; Cardwell *et al.*, 2018). Tras la exposición de la piel a la radiación UVB, se produce una reacción fotoquímica que da lugar a la producción de pre-vitamina D3 a partir de 7DHC. Posteriormente, se produce una reacción de termoisomerización reversible, convirtiendo lentamente la pre-vitamina D3 en vitamina D3 (Holick *et al.*, 1980). Alternativamente, la pre-vitamina D3 puede fotoisomerizarse aún más en isómeros inertes (lumisterol y taquisterol), o revertirse de nuevo a 7DHC. Cada reacción requiere un rango de espectro de acción UVB diferente (Hurts *et al.*, 2020). Aunque la acción de la vitamina D3 de la radiación UVB sobre la piel es altamente efectiva en términos de biosíntesis de vitamina D, existen diversos factores ambientales y característicos que pueden limitar esta ruta de suministro (Cashman, 2020).

La vitamina D3 es una vitamina con actividades biológicas similares al colecalciferol que puede mejorar la retención de calcio y fósforo, aumentar la concentración de calcio muscular y mejorar la proteína postmortem (Christakos *et al.*, 2011; Dzik y Kaczor, 2019). La 25-hidroxitamina-D3 (25-OH-D3) es un derivado de la vitamina D3. Esta es hidroxilada, debido a la adición de un hidroxilo soluble en agua. La 25-OH-D3 es la principal forma de circulación en la sangre (Gil *et al.*, 2018).



La vitamina D no es sintetizada por los microorganismos del rumen, y debe ser suministrada en la ración de los rumiantes (Torre y Caja, 1998). La vitamina D ingerida es absorbida por los enterocitos del intestino delgado por difusión simple. El 50% de la vitamina D administrada oralmente es absorbida. En el metabolismo de la vitamina D, esta se transforma en el hígado a partir de sus provitaminas (ergosterol y dehidrocalciferol) mediante la acción de los rayos ultravioletas a hidroxicolecalciferol (25-OH-D3), que es la principal forma circulante en sangre, y posteriormente metabolizado en el riñón a sus formas activas, como dihidroxicolecalciferol (25-(OH)<sub>2</sub>-D3), que actúan como hormonas en el metabolismo del Ca (Frye *et al.*, 1991; Herdt y Stowe, 1991). Mediante la dieta esta vitamina se hidroxila a 25-hidroxicolecalciferol (25 (OH)D) en el hígado mediante enzimas del citocromo P450, aunque las enzimas CYP2R1, CYP27A1 y CYP3A4 también han mostrado actividad 25-hidroxilasa en mamíferos (Jones *et al.*, 2014), como se muestra en la figura 3.

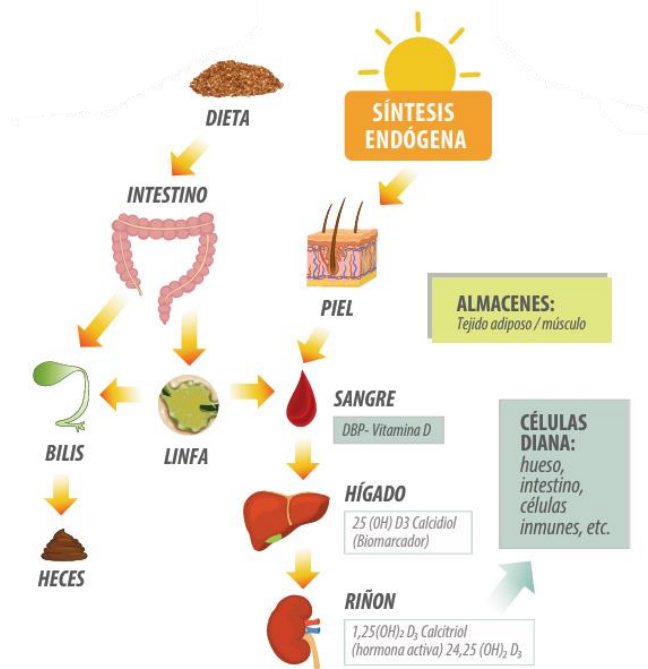


Figura 3. Esquema de la ruta metabólica de la vitamina D3 (Bacha, 2020)

Además que la vitamina D regula la absorción de calcio en el intestino y el mantenimiento del calcio y el fosfato séricos (Gil *et al.*, 2018), también se ha demostrado que participa en el metabolismo celular del músculo esquelético, pero no está clara la base precisa de los mecanismos moleculares activados por la vitamina D

en el tejido muscular. La acción de la vitamina D en el músculo afecta la homeostasis del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), que es un factor importante en la interacción entre el citosol y las mitocondrias, que está involucrada en el metabolismo energético celular (Glancy y Balaban, 2012).

Las mitocondrias no sólo juegan un papel importante en el metabolismo energético celular, ya que también representan una fuente de especies reactivas de oxígeno (ROS). Dzik *et al.* (2018) demostraron que la deficiencia de vitamina D aumentaba la citotoxicidad mediada por ROS, en consecuencia, es muy probable que la deficiencia de vitamina D a largo plazo induzca efectos nocivos sobre la función mitocondrial, lo que a su vez conduce a una mayor atrofia muscular.

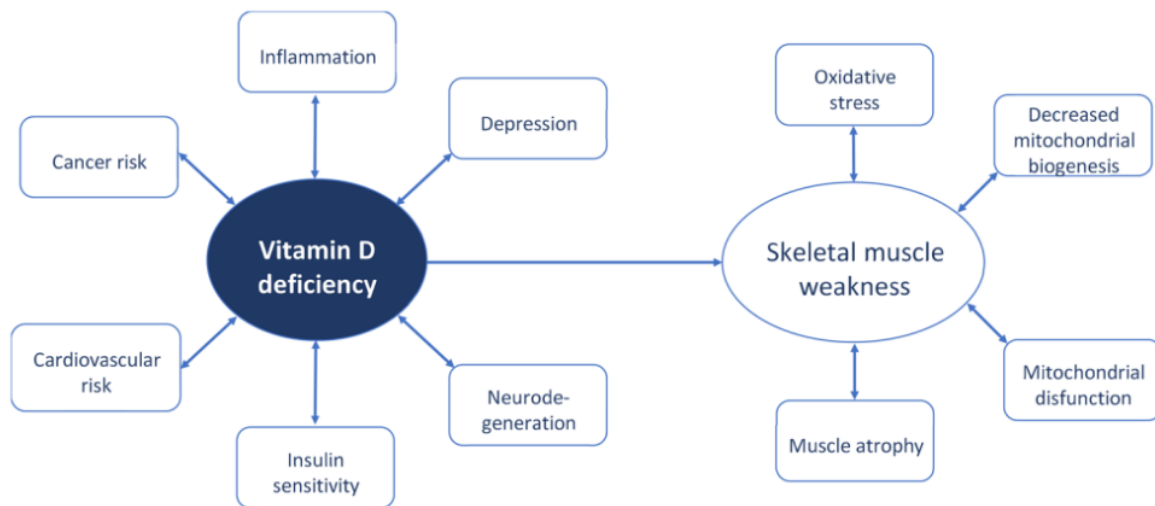


Figura 4. Panorama de las funciones biológicas de la vitamina D con énfasis en el músculo esquelético (Dzik y Kaczor, 2019)

Por lo tanto, dados los datos del efecto de la vitamina D sobre la función mitocondrial, el aspecto del estrés oxidativo en el músculo esquelético en relación con la deficiencia de vitamina D es de gran valor. Existen estudios en animales que demuestran que la vitamina D es un antioxidante muy eficaz (Hamden *et al.*, 2009; Husain *et al.*, 2009).

### Uso de vitamina D3 en alimentación de rumiantes

La suplementación de vitamina D se ha recomendado tanto en las vacas lecheras como en las vacas de carne. El impacto de prácticas agrícolas y la posible exposición limitada al sol, combinada con el aumento de las demandas metabólicas del periparto,

aboga por que las vacas deben ser suplementadas con vitamina D para mantener la homeostasis del calcio y función del sistema inmunológico. La variación estacional del estado de la vitamina D es bien aceptada en el ganado de regiones templadas (Casas *et al.*, 2015; Nelson *et al.*, 2016). Investigaciones sobre la variación en el estado de la vitamina D a lo largo de diferentes etapas de la lactancia demostró una disminución de 25-OH-D3 en las vacas lecheras después del parto. Existe interés en aumentar el contenido de vitamina D tanto en la leche como en la carne con el fin de beneficiar al consumidor de carne bovina y productos lácteos. Por ello, se han llevado a cabo estudios para investigar la forma más eficaz de suplementar al ganado con vitamina D, comparando si la suplementación con vitamina D o con 25-OH-D es más eficaz. Se ha demostrado que la suplementación con 25-OH-D3 en lugar de vitamina D3 mejora las concentraciones plasmáticas de 25-OH-D de forma más eficaz (Celi *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2018).

Al igual que en el caso de otras especies, los beneficios que supone mantener un nivel adecuado de vitamina D para el esqueleto son bien conocidos. Aunque los efectos extraesqueléticos de la vitamina D están menos estudiados en los rumiantes, se ha demostrado que los metabolitos de la vitamina D modulan las células inmunitarias bovinas tanto *in vitro* como *in vivo* (Hurts *et al.*, 2020).

En informes recientes, la suplementación con 25-OH-D3 en ganado bovino de engorda a razón de 0.10 mg/kg de dieta, tendió a aumentar la ganancia diaria promedio, el peso de la canal y el porcentaje de rendimiento (Martins *et al.*, 2020), aumentó la ganancia diaria promedio (Gouvea *et al.*, 2019) y el rendimiento en canal (Acedo *et al.*, 2019). Los investigadores atribuyeron estos resultados a los efectos de la 25-OH-D3 sobre la acumulación de proteínas.

Por otro lado, investigaciones realizadas en los últimos años con la suplementación de 25-OH-D3 han intentado mejorar la ternura de la carne, a través del aumento de la concentración de calcio en el periodo de finalización cercano al sacrificio de los animales y ver resultados post-mortem (Feed *et al.*, 2002). Montgomery *et al.* (2004), reportaron que la suplementación con 500,000 UI de vitamina D por animal/día durante 8 días consecutivos antes del sacrificio, ejerce un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) en la

terneza de los cortes, debido a que se aumenta la concentración de calcio muscular, lo que favorece la degradación de la proteína miofibrilar provocando una disminución de la actividad de la  $\mu$ -calpaínas después del sacrificio y esto es un indicativo del incremento en tejido vivo de la actividad proteolítica.

### 1.3 CONCLUSIÓN

En México, las mayores operaciones de corral de engorda se localizan en los estados del norte, donde la producción de grano y los sistemas de vaca-cría hacen esta actividad más fácil y más rentable. Estas regiones se caracterizan por la presencia de veranos calurosos porque pertenecen a zonas áridas y semiáridas. Desde hace mucho tiempo se reconoce la influencia del clima en la producción bovina. Indicadores fisiológicos, la conducta y la salud del ganado son influenciados por los factores climáticos del entorno productivo, especialmente la temperatura ambiental, la humedad relativa, la radiación solar y la velocidad del viento, los que en conjunto afectan el balance térmico. En la mayoría de los casos se presentan cambios en los requerimientos nutricionales, siendo los más afectados el agua y la energía cuando el ganado se encuentra fuera de la denominada zona termo-neutral. Estos cambios en los requerimientos, así como las estrategias adoptadas por los animales para enfrentar el período de estrés, provocan una reducción en su desempeño productivo. Para mitigar estos efectos negativos, se han implementado diversas estrategias, entre las que destacan la utilización de aditivos alimenticios, fundamentalmente los antibióticos promotores de crecimiento como la monensina sódica. Sin embargo, debido al riesgo potencial de desarrollo de resistencia a los antibióticos, existe una tendencia mundial hacia la prohibición del uso de este tipo de sustancias, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas consideradas naturales, como pueden ser los aceites esenciales y la vitamina D3. Aunque los efectos benéficos pueden potenciarse mediante la combinación de aditivos alimenticios alternativos, debido a la naturaleza química y al mecanismo de acción, al momento de indagar el tema en la literatura disponible no existía información sobre el efecto de la suplementación con aceites esenciales combinados con vitamina D3 en las dietas de finalización ofrecidas en la engorda de bovinos bajo condiciones de alta carga de calor ambiental.

## **CAPÍTULO 2: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE UNA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES Y 25-HIDROXIVITAMINA-D3 EN EL RENDIMIENTO DEL GANADO DE ENGORDA DURANTE LA FASE INICIAL DE CRECIMIENTO EN CONDICIONES DE ALTA CARGA DE CALOR AMBIENTAL**

### **ARTÍCULO 1**

#### **Influence of a Supplemental Blend of Essential Oils Plus 25-hydroxy-vitamin-D3 on Feedlot Cattle Performance during the Early-growing Phase under Conditions of High-ambient Temperature**

D.A. Mendoza-Cortéz<sup>1</sup>, J.L. Ramos-Méndez<sup>1</sup>, Y. Arteaga-Wences<sup>1</sup>, A. Félix-Bernal<sup>1</sup>, A. Estrada-Angulo<sup>1</sup>, B.I. Castro-Pérez<sup>1</sup>, J.D. Urías-Estrada<sup>1</sup>, A. Barreras<sup>2</sup>, R.A. Zinn<sup>3</sup>, A. Plascencia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80260, México.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California 21100, México.

<sup>3</sup>Animal Science Department, University of California, Davis, California 95616, United States.

\*Corresponding author at: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80260, México.

\*Corresponding author E-mail address: [aplas\\_99@yahoo.com](mailto:aplas_99@yahoo.com) (A. Plascencia).

Publicado en: Indian Journal of Animal Research (2022)

DOI: <https://doi.org/10.18805/IJAR.BF-1520>



# Influence of a Supplemental Blend of Essential Oils Plus 25-hydroxy-vitamin-D3 on Feedlot Cattle Performance during the Early-growing Phase under Conditions of High-ambient Temperature

D.A. Mendoza-Cortéz<sup>1</sup>, J.L. Ramos-Méndez<sup>1</sup>, Y. Arteaga-Wences<sup>1</sup>, A. Félix-Bernal<sup>1</sup>, A. Estrada-Angulo<sup>1</sup>,

B.I. Castro-Pérez, J.D. Urías-Estrada, A. Barreras<sup>2</sup>, R.A. Zinn<sup>3</sup>, A. Plascencia<sup>1</sup>

10.18805/IJAR.BF-1520

## ABSTRACT

**Background:** During the first stage of fattening, performance of cattle is more affected by high ambient load. A strategy to mitigate the negative effects of high ambient temperatures on energy efficiency is by monensin supplementation. However, the present concern about the use of antibiotics as feed additives has led to search for safe alternatives. Due to its nature, essential oils and supplementary vitamin D3 represent a potential substitute to monensin in cattle subjected to high environmental heat load. For this reason, The objective of this study was to compare supplemental monensin vs the novel combination essential oils plus vitamin D3 on growth performance and dietary NE of feedlot bulls exposed to elevated ambient temperature during the initial 84- d on feed.

**Methods:** Ninety crossbreed young bulls (228.0±7.1 kg initial weight) were used in 84-d trial to evaluate a blend of essential oils plus 25-hydroxy-Vit-D3 as a feed additive to alleviate the harmful effects of the high-ambient temperature on feedlot cattle performance during the early-growing phase. Dietary treatments (9 replicates/treatment) were supplemented with: 1) 24 mg of sodium monensin/kg diet DM (MON), or with 2) 119.12 mg/kg diet DM of a combination of standardized mixture of essential oils (119 mg) plus 0.12 mg of 25-hydroxy-vitamin-D3 (EO+HyD). Average THI was 82.7±3.2.

**Result:** There were no treatment effects on day-to-day fluctuations in DMI. However, EO+HyD tended to increase DMI (4.3%, P=0.06). Supplemental EO+HyD increased daily weight gain (8.3%, P<0.01) and gain-to-fed ratio (4.0%, P=0.03). Supplemental EO+HyD tended to increase estimated dietary net energy (2.5%, P=0.07) and observed-to-expected dietary NE ratio (3.0%, P=0.07). This effect can be attributed to a 7% reduction in the maintenance requirement. The combination of EO+HyD may be a valuable tool to optimize growth-performance and feed efficiency of cattle under conditions of high ambient heat load.

**Key words:** Cattle, Dietary energy, Essential oils, High-ambient temperature, Monensin, Performance, Vitamin D<sub>3</sub>.

## INTRODUCTION

The ionophore monensin sodium (MON) is widely used feed additive (20 to 30 mg/ kg diet) in many countries for enhancement of feedlot cattle gain efficiency. Increased gain efficiency has been attributed to antimicrobial effects on ruminal fermentation favouring increased ruminal molar proportions of propionate and decreased methane energy loss and to a decreased risk of subclinical acidosis consequent to daily intake fluctuations (Barreras *et al.*, 2013; Azzaz *et al.*, 2015; Marques and Cooke, 2021). This latter effect may be especially pertinent for cattle exposed to high ambient load (HAT), as fluctuations in feed intake tend to be greater under those conditions (NASEM, 2016). Barreras *et al.* (2013) observed that in cattle finished under HAT conditions (THI = 79), supplemental MON decreased daily feed intake fluctuation (1.7 vs 4.5%) and increased gain efficiency (5%). The improvement in gain efficiency was attributed to a 10% reduction in estimated maintenance requirement. However, MON supplementation tends to

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan, Sinaloa 80260, Mexico.

<sup>2</sup>Veterinary Science Research Institute, Autonomous University of Baja California, Mexicali, Baja California 21100, Mexico.

<sup>3</sup>Animal Science Department, University of California, Davis, 95616, CA, USA.

**Corresponding Author:** A. Plascencia, Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan, Sinaloa 80260, Mexico. Email: [aplas\\_99@yahoo.com](mailto:aplas_99@yahoo.com)

**How to cite this article:** Mendoza-Cortéz, D.A., Ramos-Méndez, J. L., Arteaga-Wences, Y., Félix-Bernal, A., Estrada-Angulo, A., Castro-Pérez, B.I., Urías-Estrada, J.D., Barreras, A., Zinn, R.A. and Plascencia, A. (2022). Influence of a Supplemental Blend of Essential Oils Plus 25-hydroxy-vitamin-D3 on Feedlot Cattle Performance during the Early-growing Phase under Conditions of High-ambient Temperature. *Indian Journal of Animal Research*. DOI: 10.18805/IJAR.BF-1520.

**Submitted:** 22-03-2022 **Accepted:** 20-06-2022 **Online:** 05-07-2022

decrease DMI (3 to 8%) that may lead to decreased ADG (Duffield *et al.*, 2012). Furthermore, due to the potential risk for development of antibiotic resistance, there is a global trend toward banning the use of supplemental antibiotics (WHO, 2017). Ionophore supplementation is currently prohibited within the European Union (European Commission, 2003; Directive 1831/2003/CEE) and this trend is expanding to various countries around the world. Essential oils (EO; such thymol, eugenol, vanillin, guaiac and limonene) have been investigated as an alternative to conventional antibiotics such as MON. Like the ionophores, EO have antibiotic-like characteristics affecting ruminal fermentation and nutrient absorption (Drouillard, 2018) and growth performance of feedlot lambs (Arteaga-Wences *et al.*, 2021) and cattle (Meschiatti *et al.*, 2019). In recent reports, 25-hydroxy-vitamin-D3 (HyD) supplemented at 0.1 mg/kg of diet increased ADG (Gouvea *et al.*, 2019), carcass weight (Carvalho and Perdigo, 2019) and dressing percentage (Acedo *et al.*, 2019). Researchers attributed these effects to enhanced protein accretion. Osei-Amposha *et al.* (2019) observed that HAT negatively affects muscle protein accretion rate. The objective of this study was to compare the conventional use of supplemental MON vs the novel combination EO+HyD on intake variation, growth performance and dietary NE of feedlot bulls exposed to elevated ambient temperature during the initial 84-d on feed.

## MATERIALS AND METHODS

All animal management procedures were conducted within the guidelines of locally-approved techniques for animal use and care, the experimental protocol was approved by the Universidad Autonoma de Sinaloa Animal Use and Care Committee (Protocol #11062021).

### Weather measurement and THI estimation

Climatic variables (ambient temperature and relative humidity) were obtained every hour from on-site weather equipment (2 equipment; Thermohygrothermometer AVALY, Mod. DTH880, Mofeg S.A., Zapopan, Jalisco) throughout the experimental period. The temperature humidity index was calculated using the following formula:  $THI = 0.81 \times T + RH (T - 14.40) + 46.40$  (Habeeb *et al.*, 2018).

### Animal processing, housing and feeding

Ninety young bulls (approximately 10 mo age;  $228.0 \pm 7.1$  kg initial shrunk weight, approximately 50% Zebu breeding with the remainder represented by continental and British breeds in various proportions) were used to evaluate the treatments effects on characteristics of growth-performance and dietary energetic. The trial was conducted at the Feedlot facilities located in Guasave, Sinaloa, México ( $25^{\circ}33' N$  and  $108^{\circ}25' W$ ). The site is about 50 m above sea level and has a dry climate. On arrival into the feedlot (approximately 3 weeks before initiation of the experiment), cattle were vaccinated for bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 (TSV-27, Pfizer Animal Health, México), clostridials (Fortress

7, Pfizer Animal Health, México) and *Pasteurella haemolytica* (One Shot, Pfizer Animal Health, México) and treated against parasites (CYDECTIN® NF, Pfizer Animal Health, México; Trodax, Merial, México). Cattle were injected with 500,000 IU vitamin A, 75,000 IU vitamin D<sub>3</sub> and 50 IU vitamin E (SyntADE, Zoetis) and were implanted with 40 mg of trenbolone acetate and 8 mg of estradiol 17 $\beta$  (Revalor G, MSD Salud Animal México, Santiago Tianguistenco, México) and individually weighed. Because feed and water were not withdrawn before weighing, weights were reduced (pencil shrink) by 4% to account for digestive tract fill (NRC, 2000). Cattle were blocked by weight into 2 weight groupings and randomly allocated within weight grouping 2 treatments (9 pens/treatment, 5 bulls/pen). Pens were 5x12 m with 19 m<sup>2</sup> of shade and were equipped with automatic waterers and fence-line feed bunks (2.37 m in length). Experimental phase lasted 84-d. The basal diet composition is given in Table 1. Dietary treatments consisted in the basal diet supplemented as follows: 1) 24 mg of sodium monensin/kg diet DM (MON; Rumensin 90®, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN), or 2) 119.12 mg/kg diet DM of a combination of standardized mixture of essential oils (119 mg) plus 0.12 mg of 25-hydroxyvitamin-D<sub>3</sub> (EO+HyD). Sources of EO and HyD were commercial standardized products, CRINA Ruminants® and HY3.D® (DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland). Diets were prepared at weekly intervals. Daily feed allowances to each pen were adjusted to allow minimal (< 5%) feed refusals. The amounts of feed offered and feed residual were weighed daily. Cattle were provided fresh feed twice daily at 0800 and 1400 hours in a 40:60 proportion (as fed basis). Feed bunks were visually assessed between 0700 and 0730 hours each morning, feed residuals were collected and weighed for determination of feed intake. Adjustments to daily feed offerings were made at the afternoon feeding.

### Laboratory analyses

Feed and residual feed samples were collected daily and stored at 4°C. Samples were composited weekly for dry matter determination (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15; AOAC, 2000).

### Calculations

The estimations of expected DMI and dietary net energy were performed based on measures of initial and final shrunk body weight (SBW). Average daily gain (ADG) was computed by subtracting the initial SBW from the final SBW and dividing the result by the number of days on feed (84 d). The gain efficiency was computed by dividing ADG by the daily DMI. One approach for evaluation of the efficiency of dietary energy utilization in growth-performance trials is the ratio of observed-to-expected DMI and observed-to-expected dietary NE. Based on diet NE concentration and measures of growth performance, there is an expected energy intake. This estimation of expected DMI is performed based on observed ADG, average SBW and NE values of the diet (Table 1):  $\text{expected DMI, kg/d} = (\text{EM}/\text{NE}_m) + (\text{EG}/\text{NE}_g)$ , where EM (energy required for maintenance, Mcal/d) = EM =



$0.077W^{0.75}$ , EG (energy required for gain, Mcal/d) =  $ADG^{1.097} \times 0.0557W^{0.75}$  (NRC, 1984) and  $NE_m$  and  $NE_g$  (Mcal/kg) are corresponding NE values based on the ingredient composition (NASEM, 2016) of the experimental diet (Table 1). The observed dietary net energy was calculated using EM and EG values and DMI observed during experiment by means of the quadratic formula:

$$X = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2c}$$

Where

$x = NE_m$ , Mcal/kg,  $a = -0.877DMI$ ,  $b = 0.877EM + 0.41DMI + EG$ ,  $c = -0.41EM$  and  $NE_g = 0.877NE_m - 0.41$  and observed dietary  $EN_g$  was estimated from observed dietary  $NE_m$  as follows:  $0.877NE_m - 0.41$  (Zinn *et al.*, 2008).

### Statistical analyses

Treatment effects on growth performance and dietary energetics were analysed as a randomized complete block design (MIXED procedure SAS, 2007), with pen as the experimental unit. The fixed effect consisted of treatment and block as the random component. For comparing DM intake pattern, equality of mean effects and homogeneity between variances (CV1 vs CV2) were tested using Brown and Forsythe's variation of Levene's test. In all cases, least squares mean and standard error are reported and contrasts are considered significant when the P value  $\leq 0.05$  and tendencies are identified when the P value  $> 0.05$  and  $\leq 0.10$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The experiment was conducted during summer season. Average of THI was  $82.7 \pm 3.2$  with a minimum and maximum of 75.1 and 90.2, respectively (Table 2). Daily maximal THI exceeded 80 "danger or "emergency" range (Habeb *et al.*, 2018) for every day (average of 5.3 h daily above THI 80) of the 84-d study. Based on THI coding, bulls were exposed, on a daily basis, to conditions of stressful ambient heat load (Silanikove, 2000).

Daily intake of additive treatments averaged 167 mg/d for MON, 863 mg/d for EO and 0.87 mg/d for HyD, respectively. The daily dose of MON (0.590 mg/kg LW) was within the recommended dose to for increased gain efficiency (Duffield *et al.*, 2012). The daily dosage of EO (3 mg/kg LW) and HyD (0.003 mg/kg LW) were within the range of levels previously shown to enhance growth performance or carcass (Acedo *et al.*, 2019; Carvalho and Perdigo, 2019; Toseti *et al.*, 2020).

Effects of treatments on DMI, growth performance and dietary energetics are shown in Table 3. Compared with MON, EO+HyD tended to increase DMI (4.3%;  $P=0.06$ ). The observed DMI observed for MON and EO+HyD treatments were -7.6 and -4.3% lower than expected based on dietary energy concentration and on average SBW (Table 1 and 3) for cattle

under favorable environmental conditions (NASEM, 2016). Mader *et al.* (1999) observed an average decrease in DMI of 14% when cattle were exposed to high ambient temperature (average THI=79.1) for short period times (17-d). The slight reduction in DMI observed in the present trial reflects a "long term" adaptation to the persistent ambient heat load. It is expected that day-to-day fluctuations in DMI will be greater in cattle fed exposed to high ambient heat load (NRC, 2000). Although variations in DMI of up to 15% do not seem to appreciably affect ADG and gain efficiency (da Silva *et al.*, 2018), fluctuations of greater than 15% may lower gain efficiency (Zinn, 1994). In warm climates the risk of higher intake variations become greater. A perceived advantage of supplemental MON is reduced variation in DMI (Galyean and Rivera, 2003), that can be particularly advantageous during period of extreme ambient conditions

**Table 1:** Diet formulations and feeding program during early-growing phase (1-84d).

Item	Experimental diets	
	MON	CRINA+HyD
<b>Ingredient composition, % DM basis</b>		
Corn stover	20.00	20.00
Steam-flaked corn	55.00	55.00
Tallow	2.50	2.50
Soybean meal	10.00	10.00
Cane molasses	9.00	9.00
Agromix-SP <sup>a</sup>	2.50	2.50
DSM-dilution 1 <sup>b</sup>	1.00	-
DSM-dilution 2 <sup>c</sup>	-	1.00
<b>Nutrient composition, % DM basis<sup>d</sup></b>		
Crude protein	13.22	13.22
Neutral detergent fiber	22.74	22.74
Calcium	0.84	0.84
Phosphorous	0.31	0.31
<b>Calculated NE, Mcal/kg</b>		
Maintenance	1.99	1.99
Gain	1.34	1.34

<sup>a</sup>Agromix SP contained: CP, 53.0%, Calcium, 13.6%; Phosphorous, 0.40%; Magnesium, 1.0%; Potassium, 0.71%; NaCl, 15%; Co, 5.59 ppm; Fe, 2759 ppm; Zn, 2913 ppm; Cu, 20 ppm; Mn, 1674 ppm; vitamin A, 225 IU/g; vitamin E, 1.26 UI/g.

<sup>b</sup>Premix-DSM dilution contained (by 10 kg): Calcium 20.9% g; Phosphorus, 3.9%; Vit A, 40,000 KUI; Vit D3, 50,000 KUI, Vit E, 1.87 ppm, biotin, lactonúcleo industrial (trace mineral) 50 g/kg, and 24 g Monensin.

<sup>c</sup>Premix-DSM dilution contained (by 10 kg): Calcium 20.9% g; Phosphorus, 3.9%; Vit A, 40,000 KUI; Vit D3, 50,000 KUI, Vit E, 1.87 ppm, biotin, lactonúcleo industrial (trace mineral) 50 g/kg, and the combination of 119 g EO plus 0.12 g HyD/kg diet. (CRINA and HyD3; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland, Nutritional Products, Basel, Switzerland).

<sup>d</sup>Nutrient composition and net energy values are based diet formulation and tabular values for individual feed ingredients (NASEM, 2016).

**Table 2:** Ambient temperature (Ta), mean relative humidity (RH) and mean calculated temperature-humidity index (THI)<sup>a</sup> registered during the phase 1 of the experiment.

Week	Mean Ta, °C	Min Ta, °C	Max Ta, °C	Mean RH, %	Min RH, %	Max RH, %	Mean THI	Min THI	Max THI
1	36.75±1.3	31.44±1.1	42.06±1.5	38.57±4.1	23.93±1.1	53.21±7.1	86.01±2.0	76.93±1.2	95.09±2.8
2	36.96±1.6	32.06±1.9	41.86±1.3	38.00±7.1	20.21±0.6	55.79±4.5	86.84±3.6	78.03±2.5	95.66±4.7
3	31.83±2.9	26.31±2.1	37.35±3.7	40.32±2.7	29.18±2.8	51.46±3.8	80.06±3.7	72.36±2.3	87.76±5.0
4	34.08±2.9	28.79±1.9	39.36±2.8	23.21±1.7	20.43±0.9	26.00±2.6	78.90±2.2	73.04±1.7	84.76±2.6
5	32.00±3.1	26.75±2.6	37.26±3.8	29.14±4.5	24.57±1.8	33.71±7.9	80.39±3.3	77.39±3.7	86.39±2.9
6	30.56±2.4	26.35±1.3	34.77±1.1	52.84±3.6	45.25±2.4	60.43±2.7	76.26±1.6	66.43±1.3	86.09±1.9
7	30.93±2.7	26.35±2.3	35.51±3.0	77.23±2.7	62.93±1.8	91.54±3.8	86.20±3.6	77.89±1.3	94.52±3.2
8	30.89±1.8	26.70±1.7	35.09±1.9	75.14±3.7	62.43±3.4	87.86±5.3	85.60±3.4	78.24±3.5	92.96±3.4
9	29.85±0.6	24.64±1.1	35.07±0.5	71.43±3.2	56.46±2.0	86.39±4.7	83.68±1.9	74.68±1.5	83.68±1.9
10	29.26±0.7	25.23±0.8	33.29±0.7	72.80±1.5	61.04±1.8	84.57±1.7	82.44±0.7	75.54±0.8	89.34±0.9
11	30.07±1.6	25.51±1.4	34.63±1.7	73.96±2.5	59.50±1.4	88.43±4.2	84.35±2.5	76.40±2.3	92.31±2.8
12	27.97±1.7	23.66±2.0	32.27±1.3	68.91±4.9	56.04±4.2	81.79±5.5	79.97±2.8	72.76±3.1	87.17±2.5
Mean 1-84 d	31.76±2.8	26.98±3.1	36.54±2.6	55.13±3.0	43.50±2.7	66.76±4.8	82.67±3.2	75.12±2.5	90.22±2.4

<sup>a</sup> THI = 0.81 × ambient temperature + [(relative humidity/100) × (ambient temperature - 14.4)] + 46.4. THI code (Normal THI < 74; Alert >74-79 ; Danger 79-84 and Emergency > 84).

**Table 3:** Effect of supplemental monensin (MON) or blended oils combined with vitamin D<sub>3</sub> (EO+HyD) on growth performance in growing phase of feedlot cattle.

Item	Additives <sup>a</sup>		SEM	P value
	MON	EO+HyD		
Days on feed	84	84		
Pen replicates	9	9		
Live weight, kg <sup>b</sup>				
Initial	228.05	228.04	2.42	0.88
Final	339.43	349.50	3.25	0.04
Daily gain, kg/d	1.326	1.446	0.029	<0.01
Dry matter intake, kg/d	6.946	7.256	0.10	0.06
DMI variation, CV%	3.24	6.74	2.29	0.39
Gain to feed ratio	0.191	0.199	0.003	0.03
Dietary net energy, Mcal/kg				
Maintenance	1.91	1.95	0.017	0.07
Gain	1.26	1.30	0.015	0.07
Observed-to-expected dietary NE				
Maintenance	0.95	0.98	0.009	0.07
Gain	0.94	0.97	0.011	0.07
Observed-to-expected DMI	1.054	1.025	0.010	0.07

<sup>a</sup> MON=Monensin 24 mg/kg diet DM (Rumensin 90<sup>®</sup>, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); EO+HyD= standardized source of a mixture of essential oils 119 mg/kg diet DM (CRINA; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) plus 0.12 mg/kg diet DM of 25hydroxy-vitamin-D<sub>3</sub> (HyD<sub>3</sub>; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland)

<sup>b</sup> Initial shrunk and final weight is the full live weight reduced 4% to adjustment for gastrointestinal fill.

when risk of intake variation is expected to be highest. Barreras *et al.* (2013) observed that in feedlot heifers finished under high ambient heat load (THI=79.2), the variation in energy intake was 2.5 times lower in ionophoresupplemented heifers (CV= 1.7%) than for heifers fed a nonsupplemented control diet (CV = 4.5%).

Compared with MON, EO+HyD increased (8.3%, P<0.01) ADG. This enhancement in ADG may reflect, in part, a potentiating effect of HyD on net protein retention and

hence, lean tissue growth (Carvalho and Perdigo, 2019; Martins *et al.*, 2020). Toseti *et al.* (2020) observed that in Nellore bulls supplemented with EO (CRINA Ruminants<sup>®</sup>) plus exogenous α-amylase, ADG was 8.5% greater than observed in bulls fed MON. The increased ADG in their study was largely due to a 5% increase in DMI. Thus, they did not observe a treatment effect on gain efficiency. However, in the present study, EO+HyD also increased gain efficiency (4.0 %; P=0.03). Thus, the difference in ADG between MON and EO+HyD was not solely a reflection of differences in DMI.

Based on growth performance measures, supplemental EO+HyD tended to increase (2.5%,  $P=0.07$ ) dietary net energy and the observed-to-expected dietary NE ratio (3%,  $P=0.07$ ) compared with MON. An alternative approach for expressing the treatments effects on energetics in the present trial is by assumption that the changes in efficiency of energy retention is affected solely by the environmental effects on the maintenance coefficient (MQ). Accordingly, the MQ for the present study can be estimated as follows:

$$MQ = \frac{(NE_m \times [DMI - \{EG/NE_g\}])}{SBW^{0.75}}$$

where  $NE_m$  and  $NE_g$  corresponds to the NE values of the diet based on tabular values (Table 1; NASEM, 2016) and EG = energy requirement for weight gain (Mcal/d). Thus, given the NE values for the basal diet are consistent with expected based on tabular values, the corresponding MQ for bulls fed MON was 0.084 Mcal/  $W^{0.75}$ , while the MQ for bulls fed EO+HyD was 0.079 Mcal/  $W^{0.75}$ . Accordingly, the increase of MQ above specified standard (0.077 Mcal/  $SBW^{0.75}$ ; NASEM, 2016) was 8.3% for MON and 2.5% for EO+HyD. This estimated increase in MQ for bull MON is in good agreement (0.99) with the expected increase based on standard heat load equation NRC (2000). Based on energetic efficiency, the apparent mitigating effect of EO+HyD on cattle response to ambient heat load could be partially explained by certain metabolic adjustments in adapted cattle. In heat stressed dairy cattle, supplemental EO lowered the frequency of high rectal temperature and increased blood oxygenation (Brito da Silva et al., 2020). More research is needed to elucidate the potential physiological effects of this novel combination of EO and HyD in cattle growing under high ambient load.

## CONCLUSION

The combination of a blend of essential oils plus 25hydroxy-vitamin-D<sub>3</sub> (EO+HyD) may help optimize growthperformance and feed efficiency of feedlot cattle exposed to high ambient heat load. Under the experimental conditions in which this trial was carried out, the benefits ( based on growth performance and energetic efficiency ) of supplemental EO+HyD were superior to that of supplemental MON.

## ACKNOWLEDGEMENT

Appreciation is expressed to CONACYT, Mexico, for fellowship support (CVU 927615) to Daniel A. MendozaCortéz. The authors thank for the support received by the commercial feedlot 'Ganadera Rubios' during the development of the experiment.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

- Acedo, T.S., Gouvêa, V. N., Vasconcellos, G.S.F.M., Arrigoni, M., Martins, C.L., Millen, D.D., Muller, L.R., Melo, G.F., Rizzieri, R.A., Costa, C.F., Sartor, A.D. (2019). Effect of 25-hydroxyvitamin-D3 on feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 96 (Suppl. 3): 447-448.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis (17<sup>th</sup> ed.) Association of Official Analytical Chememists. Inc., Gaithersburg, MD, USA.
- Arteaga-Wences, Y.J., Estrada-Angulo, A., Gerardo Ríos-Rincón, F.G., Castro-Pérez, B.I., Mendoza-Cortéz, D.A., ManriquezNúñez, O.M., Barreras, A., Corona-Gochi, L., Zinn, R.A., Perea-Domínguez, X.P., Plascencia, A. (2021).The effects of feeding a standardized mixture of essential oils vs monensin on growth performance, dietary energy and carcass characteristics of lambs fed a high-energy finishing diet. *Small Ruminant Research*. 205: 106557.
- Azzaz, H.H., Murad, H.A., Morsy, T.A. (2015). Utility of ionophores for ruminant animals: A review. *Asian Journal of Animal Science*. 9: 254-265.
- Barreras, A., Castro-Pérez, B.I., López Soto, M.A., Torrentera, N.G., Montañó, M.F., Estrada-Angulo, A., Ríos, F.G., DávilaRamos, H., Plascencia, A., Zinn, R.A. (2013). Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 26: 1553-1561.
- Brito da Silva, R., Pereira, M.N., Canonenco de Araujo, R., Silva, W.R., Pereira, R.A.N. (2020). A blend of essential oils improved feed efficiency and affected ruminal and systemic variables of dairy cows. *Translational Animal Science*. 4: 182-193.
- Carvalho, V.V., Perdigão, A. (2019). Supplementation of 25-hydroxyvitamin-D3 and increased vitamin E as a strategy to increase carcass weight of feedlot beef cattle. *Journal of Animal Science*. 97(Suppl.3): 440.
- da Silva, J., Carrara, T.V. B., Pereira, M.C.S., de Oliveira, C.A., Batista Jr., I.C., Watanabe, D.H.M., Rigueiro, A.L.N., Arrigoni, M.D.B., Millen, D.D. (2018). Feedlot performance, feeding behavior and rumen morphometrics of Nellore cattle submitted to different feeding frequencies. *Scientia Agricola*. 75: 121-128.
- Drouillard, J.S. (2018). Current situation and future trends for beef production in the United States of America-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 31:1007-1016.
- Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N. (2012). Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain and dry matter intake. *Journal of Animal Science*. 90: 4583-4592.
- Galyean, M.L., Rivera, J.D. (2003). Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 83: 13-20.
- Gouvêa, V.N., Vasconcellos, G.S., Acedo, T.S., Tamassia, L.F. (2019) . The 25-hydroxyvitamin D3 supplementation improves animal performance of Nellore cattle grazed in tropical grass. *Journal of Animal Science*. 97(Suppl. 3):161.
- Habeeb, A.A., Gad, A.E., Atta, M.A. (2018). Temperature-humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of farm animals.

- International Journal of Biotechnology Recent Advances. 1: 35-50.
- Mader, T.L., Dahlquist, J.M., Hahn, G.L, Gaughan, J.B. (1999). Shade and wind barrier effects on summertime feedlot cattle performance. *Journal of Animal Science*. 77: 2065-2072.
- Marques, R.S., Cooke, R.F. (2021). Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animals*. 11: 2871.
- Martins, T.E., Acedo, T.S., Gouvea, V.N., Vasconcelos, G.S., Arrigoni, M.B., Martins, C.L., Millen, D.D., Pai, M.D., Perdigao, A., Melo, G.F., Rizzieri, R.A., Rosolen, L.M., Costa, C., Sartor, A.B. (2020). Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on gene expression of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 98 (Suppl. 4):302-303.
- Meschiatti, M.A.P., Gouvea, V.N., Pellerini, L.A., Batalha, C.D.A., Bielhl, M.V., Acedo, T.S., Dórea, J.R.R., Tamasia, L.F.M., Owens, F.N., Santos, F.A.P. (2019). Feeding the combination of essential oils and exogenous amylase increases performance and carcass production of finishing cattle. *Journal of Animal Science*. 97: 456-471.
- NASEM (2016). National Academies of Sciences, Engineering and Medicine. Nutrient requirements of beef cattle. 8<sup>th</sup> revised ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- NRC (1984). Nutrient Requirements of Beef Cattle. (6<sup>th</sup> Rev. ed.) Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC (2000). Nutrient Requirements of Beef Cattle (Updated 7<sup>th</sup> Rev. ed.) Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Osei-Amponsah, R., Chauhan, S.S., Leury, B.J., Cheng, L., Cullen, B., Clarke, I.J., Dunshea, F.R. (2019). Genetic selection for thermotolerance in ruminants. *Animals*. 9: 948.
- SAS (2007). Statistical Analyses Software. SAS/STAT user's guide: Version 9.1. Cary (NC): SAS Institute.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of the extensively managed domestic ruminants. *Livestock Science*. 67: 1-18.
- Toseti, L.B., Goulart, R.S., Gouvea, V.N., Acedo, T.A., Guilherme, S.F.M., Pires, A.V., Leme, P.R., Netto, A.S. Silva, S.L. (2020). Effects of a blend essential oils and exogenous  $\alpha$ -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 269: 114643.
- WHO. (2017). World health statistics: Monitoring health for the sustainable development goals (SDGs). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255336>.
- Zinn, R. A. (1994). Influence of fluctuation in feed intake on feedlot cattle growth performance and digestive function. Page 77 in: Proceedings of Southwest Nutrition Management Conference, University of Arizona, Tucson.
- Zinn, R.A., Barreras, A., Owens, F.N. and A. Plascencia, A. (2008). Performance by feedlot steers and heifers: Daily gain, mature body weight, dry matter intake and dietary energetics. *Journal of Animal Science*. 86: 2680-2689.

**CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITES  
ESENCIALES MÁS VITAMINA D3 COMPARADO CON LA  
SUPLEMENTACIÓN CON MONENSINA SÓDICA MÁS  
VIRGINIAMICINA EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO, ENERGÉTICA  
DE LA DIETA Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE BOVINOS EN  
FINALIZACIÓN**

**ARTÍCULO 2**

**Comparing Blend of Essential Oils Plus 25-Hydroxy-Vit-D3 Versus Monensin  
Plus Virginiamycin Combination in Finishing Feedlot Cattle: Growth  
Performance, Dietary Energetics, and Carcass Traits**

A. Estrada-Angulo<sup>1</sup>, D.A. Mendoza-Cortéz<sup>1</sup>, J.L. Ramos-Méndez<sup>1</sup>, Y.J. Arteaga-Wences<sup>1</sup>, J.D. Urías-Estrada<sup>1</sup>, B.I. Castro-Pérez<sup>1</sup>, F.G. Ríos-Rincón<sup>1</sup>, M.A. Rodríguez-Gaxiola<sup>1</sup>, A. Barreras<sup>2</sup>, R.A. Zinn<sup>3</sup>, A. Plascencia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80260, México.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California 21100, México.

<sup>3</sup>Animal Science Department, University of California, Davis, California 95616, United States.

\*Corresponding author at: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80260, México.

\*Corresponding author E-mail address: [aplas\\_99@yahoo.com](mailto:aplas_99@yahoo.com) (A. Plascencia).

Publicado en: *Animals* (12)2022

DOI: <https://doi.org/10.3390/ani12131715>

# Comparing Blend of Essential Oils Plus 25-Hydroxy-Vit-D3 Versus Monensin Plus Virginiamycin Combination in Finishing Feedlot Cattle: Growth Performance, Dietary Energetics, and Carcass Traits

Alfredo Estrada-Angulo <sup>1</sup>, Daniel A. Mendoza-Cortez <sup>1</sup>, Jorge L. Ramos-Méndez <sup>1</sup>, Yesica J. Arteaga-Wences <sup>1</sup>, Jesús D. Urías-Estrada <sup>1</sup>, Beatriz I. Castro-Pérez <sup>1</sup>, Francisco G. Ríos-Rincón <sup>1</sup>, Miguel A. Rodríguez-Gaxiola <sup>1</sup>, Alberto Barreras <sup>2</sup>, Richard A. Zinn <sup>3</sup> and Alejandro Plascencia <sup>1,\*</sup>

**Citation:** Estrada-Angulo, A.; Mendoza-Cortez, D.A.; Ramos-Méndez, J.L.; Arteaga-Wences, Y.J.; Urías-Estrada, J.D.; Castro-Pérez, B.I.; Ríos-Rincón, F.G.; Rodríguez-Gaxiola, M.A.; Barreras, A.; Zinn, R.A.; et al. Comparing Blend of Essential Oils Plus 25-Hydroxy-Vit-D3 Versus Monensin Plus Virginiamycin Combination in Finishing Feedlot Cattle: Growth Performance, Dietary Energetics, and Carcass Traits. *Animals* **2022**, *12*, 1715. <https://doi.org/10.3390/ani12131715>

Academic Editors: Manuel

Fondevila and Marian Czauderna

Received: 1 June 2022

Accepted: 1 July 2022

Published: 2 July 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

<sup>1</sup> Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan 80260, Sinaloa, Mexico; alfred\_vet@hotmail.com (A.E.-A.); danielmendozac@outlook.com (D.A.M.-C.); ramos.jorge.92@outlook.com (J.L.R.-M.); arteaga.yesi.92@hotmail.com (Y.J.A.-W.); uriaestrada\_jd@hotmail.com (J.D.U.-E.); laisa\_29@hotmail.com (B.I.C.-P.); fragerr@hotmail.com (F.G.R.-R.); mangel@uas.edu.mx (M.A.R.-G.)

<sup>2</sup> Veterinary Science Research Institute, Autonomous University of Baja California, Mexicali 21100, Baja California, Mexico; beto\_barreras@yahoo.com

<sup>3</sup> Animal Science Department, University of California, Davis, CA 95616, USA; razinn@ucdavis.edu

\* Correspondence: [aplas\\_99@yahoo.com](mailto:aplas_99@yahoo.com); Tel.: +52-686-1889449

**Simple Summary:** A primary objective in livestock production is the limitation of use of conventional antibiotics as feed additives for promoting growth. Due to their antimicrobial characteristics, essential oils are “generally recognized as safe” alternatives to conventional antibiotics. In this study, dietary supplementation of finishing cattle with essential oils combined with vitamin D3 improved dietary energy utilization comparable to that of the combination of ionophore monensin and antibiotic virginiamycin. Furthermore, supplementation with essential oils combined with vitamin D3 during the finishing phase may improve carcass Longissimus muscle area and carcass yield.

**Abstract:** Ninety crossbreed bulls ( $349.5 \pm 8.25$  kg initial weight) were used in an 87day trial to compare the effects of a blend of essential oils plus 25-hydroxy-Vit-D3 (EO + HyD) versus the combination of monensin with virginiamycin (MON + VM) on feedlot growth performance and carcass characteristics. Dietary treatments (nine replicates/treatment) were supplemented with 40 mg/kg diet dry matter of MON + VM (equal parts) or with 120.12 mg/kg diet dry matter of a combination of standardized mixture of essential oils (120 mg) plus 0.12 mg of 25-hydroxy-vitamin-D3 (EO + HyD). There were no treatment effects on dry matter intake (DMI,  $p = 0.63$ ). However, the coefficient of variation in day-to-day DMI was greater for EO + HyD than for MON + VM (11.4% vs. 3.88%,  $p = 0.04$ ). There were no treatment effects ( $p \geq 0.17$ ) on daily weight gain, gain-to-feed ratio, and estimated dietary net energy. Cattle supplemented with EO + HyD had greater Longissimus muscle area (7.9%,  $p < 0.01$ ) and estimated retail yield (1.6%,  $p = 0.03$ ), and tended to have heavier (1.7%,  $p = 0.10$ ) carcass weight. Differences among treatments in dressing percentage, fat thickness, kidney-pelvic-heart fat, and marbling score were not appreciable ( $p > 0.10$ ). It is concluded that growth performance response and dietary energetic are similar for finishing cattle supplemented with EO + HyD vs MON + VM. However, compared with MON + VM, supplementation with EO + HyD during the finishing phase may improve carcass Longissimus area and carcass yield.

**Keywords:** feedlot cattle; essential oils; vitamin D3; monensin; virginiamycin; growth performance; carcass

## 1. Introduction

Virginiamycin (VM), a peptolide antibiotic, has been used as feed additive in feedlot cattle to decrease the incidence of acidosis and liver abscess, and to promote growth [1–3]. The effect of VM on Gram-positive bacteria is similar to that of ionophore monensin (MON), although their modes of action differ (virginiamycin inhibits protein synthesis by binding to the 23S ribosomal subunit blocking the translation process, with no effect on transcription, while the ionophore monensin modifies movement of ions across the membranes of rumen microbes) [4]. Accordingly, numerous studies [5–8] have demonstrated an additive effect when the two antibiotics are fed in combination. Concern over routine use of supplemental antibiotics for growth enhancement has led to the search for nonantibiotic alternatives that may likewise enhance growth performance [9]. Supplemental essential oils (EOs; such as piperine, limonene, eugenol, and thymol) also manifest antimicrobial properties by modifying ruminal fermentation patterns (greater molar ratio of ruminal propionate to acetate), retarding the rate of ruminal starch fermentation, and reducing ruminal degradation of feed protein [10,11]. In this regard, supplementation of feedlot finishing diets with a standardized mixture of essential oils compounds (thymol, eugenol, vanillin, and limonene) at dosages of 90 to 150 mg/kg diet dry matter (DM) resulted in enhancements in gain efficiency and efficiency of energy utilization comparable to those of MON or VM supplementation separately [12,13]. In recent reports, 25-hydroxyvitamin-D3 (HyD) supplemented at 0.10 mg/kg of diet tended to increase average daily gain (ADG) [14], carcass weight [15], and dressing percentage [16]. Researchers attributed these results to the effects of HyD on protein accretion [17]. Due to the chemical nature and the mechanism of action of EO and HyD, their combination could be complementary. We hypothesized that supplementation of feedlot cattle finishing diets with the combination of EO plus HyD may result in enhancements in growth performance and energetic efficiency comparable to the combination of MON with VM.

## 2. Materials and Methods

The trial was conducted at the feedlot research facilities located in Guasave, Sinaloa, México (25°33' N and 108°25' W). The site is about 50 m above sea level and has a dry climate. During the course of the experiment, ambient air temperature averaged 22.6 °C (minimum and maximum of 16.3 and 28.0 °C, respectively), and relative humidity averaged 53.9% (minimum and maximum of 18.4% and 88.0%, respectively). All animal management procedures were conducted within the guidelines of locally approved techniques for animal use and care [18]. The experimental protocol was approved by the Universidad Autonoma de Sinaloa Animal Use and Care Committee (Protocol #21092021).

### 2.1. Animal Processing, Diets, Treatments, Housing, and Feeding

Ninety intact male ( $349.5 \pm 8.25$  kg initial shrunk weight) crossbreed cattle (approximately 50% Zebu breeding with the remainder represented by continental and British breeds in various proportions) were used to evaluate the treatments effects on growth performance, dietary energetic, and carcass characteristics. On arrival into the feedlot (approximately 3 months before initiation of the experiment), cattle were vaccinated for bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 (TSV-27, Pfizer Animal Health, México City, Mexico), clostridials (Fortress 7, Pfizer Animal Health, Mexico City, Mexico), and *Pasteurella haemolytica* (One Shot, Pfizer Animal Health, México City, Mexico), and treated against parasites (CYDECTIN® NF, Pfizer Animal Health, México; Trodax, Merial, México). Cattle were injected with 500,000 IU of vitamin A, 75,000 IU of vitamin D3, and 50 IU of vitamin E (Synt-ADE, Zoetis) and were implanted with 40 mg of trenbolone acetate and 8 mg of estradiol 17 $\beta$  (Revalor G, MSD Salud Animal Mexico, Santiago Tianguistenco, México). Cattle were fed transition diets for 70 days prior to receiving the finishing diet. Cattle were adapted to the basal

finishing diet (minus treatment additives) for 2 weeks prior to initiation of the study. The ingredient composition of the basal diet and its chemical composition according to NASEM [19] are shown in Table 1. Upon initiation of the study, cattle were implanted with 140 mg of trenbolone acetate and 20 mg of estradiol 17 $\beta$  (Revalor, MSD Salud Animal Mexico, Santiago Tianguistenco, México) and individually weighed (feed and water were not withdrawn before weighing). Cattle were blocked by weight and randomly allocated within blocks to two treatments (nine pens/treatment, five bulls/pen). Pens were 5.00  $\times$  12.00 m with 19 m<sup>2</sup> of shade and were equipped with automatic waterers and fence-line feed bunks (2.37 m in length). Experiments lasted 87 days. Dietary treatments consisted of a steam-flaked corn-based finishing diet (Table 1) supplemented (dry matter basis, DM) with (1) MON + VM, consisting of 20 mg monensin/kg diet (MON; Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN, USA) plus 20 mg virginiamycin/kg diet (VM; V-max 50, Phibro Animal Health, Ridgefield Park, NJ, USA) or (2) EO + HyD, consisting of a 120 mg of a blend of essential oils/kg diet (EO; CRINA, DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) plus 0.12 mg of 25-hydroxy-vitamin-D3/kg diet DM (Hy-D; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland). Diets were prepared at weekly intervals. Daily feed allotments to each pen were adjusted to allow minimal (<5%) feed refusals. Amounts of feed offered and of feed refused were weighed daily. Cattle were provided fresh feed twice daily at 8:00 a.m. and 2:00 p.m. in a 40:60 proportion (as fed basis). Feed bunks were visually assessed between 7:00 and 7:30 a.m. each morning, refusals were collected and weighed, and feed intake was determined. Adjustments to daily feed delivery were provided at the afternoon feeding. Cattle were fasted (drinking water was not withdrawn) for approximately 16 h before recording the final live weight (LW).

**Table 1.** Composition of basal diet fed by cattle.

Item	Treatments	
	MON + VM	EO + HYD
Ingredient composition (% DM basis)		
Corn stover	12.00	12.00
Steam-flaked corn	67.80	67.80
Soybean meal (Ref 5-20-637) [19]	6.00	6.00
Premix dilution MON + VM <sup>§</sup>	1.50	---
Premix dilution EO + HyD <sup>†</sup>	--	1.50
Molasses cane	7.50	7.50
Yellow grease	2.70	2.70
Agromix SP <sup>‡</sup>	2.50	2.50
Chemical composition (%DM basis) <sup>¶</sup>		
Dry matter	84.60	84.60
Crude protein	11.80	11.80
Rumen degradable protein (as % of protein)	59.82	59.82
Neutral detergent fiber	15.36	15.36
Calcium	0.81	0.81
Phosphorus	0.30	0.30
Calculated net energy (Mcal/kg)		
Metabolizable energy	3.05	3.05
Maintenance	2.14	2.14
Gain	1.46	1.46

<sup>†</sup> Agromix SP contained the following: CP, 53.0%; calcium, 13.6%; phosphorus, 0.40%; magnesium, .0%; potassium, 0.71%; NaCl, 15%; Co, 5.59 ppm; Fe, 2759 ppm; Zn, 2913 ppm; Cu, 20 ppm; Mn, 1674 ppm; vitamin A, 225 IU/g; vitamin E, 1.26 UI/g (Agronutrientes del Norte, Monterrey, NL,



Mexico). § Premix dilution contained the following (per 10 kg): calcium, 20.9%; phosphorus, 3.9%; Vit A, 40,000 KUI; Vit D3, 50,000 KUI; biotin, 1.87 ppm; Lactonúcleo industrial (trace mineral), 50 g/kg; 13 g of monensin/kg diet plus 13 g of virginiamycin/kg diet. † Premix dilution contained the following (per 10 kg): calcium, 20.9%; phosphorus, 3.9%; Vit A, 40,000 KUI; Vit D3, 50,000 KUI; biotin, 1.87 ppm; Lactonúcleo industrial (trace mineral), 50 g/kg; 67 g of EO plus 0.54 g of HyD/kg diet (CRINA Ruminants and Hy-D; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland, Nutritional Products, Basel, Switzerland). ‡ Nutrient composition (except DM which was determined in laboratory) and net energy values are based on the diet formulation and tabular values for individual feed ingredients [19].

## 2.2. Laboratory Analyses

Feed and refusal samples were collected daily for dry matter analysis (oven drying at 105 °C until no further weight loss occurred; method 930.15 [20]).

## 2.3. Calculations

Estimations of expected dry matter intake (DMI) and dietary net energy value were performed on the basis of measures of initial shrunk body weight (SBW), assuming that SBW is 96% of full weight [21], and fasted (16 h) final weight. Average daily gain (ADG) was computed by subtracting the initial SBW from the final fasted weight and dividing the result by the number of days on feed (87 days). Gain efficiency was computed by dividing ADG by the daily DMI. The estimation of expected DMI was performed on the basis of the observed ADG and SBW according to the following equation: expected DMI, kg/day =  $(EM/NE_m) + (EG/NE_g)$ , where EM (energy required for maintenance, Mcal/day) =  $0.077W^{0.75}$ , EG (energy required for gain, Mcal/day) =  $ADG^{1.097} \times 0.0557W^{0.75}$  [22], and divisors  $NE_m$  (diet energy for maintenance) and  $NE_g$  (diet energy for gain) = 2.14 and 1.46 Mcal/kg (derived from tabular values based on the ingredient composition of the experimental diet [19]). Estimation of dietary  $NE_m$  was performed by means of the following quadratic formula:

$$X = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2c}$$

where  $x = NE_m$ , Mcal/kg,  $a = -0.41EM$ ,  $b = 0.877EM + 0.41DMI + EG$ , and  $c = -0.877 DMI$  [23]. The observed dietary  $NE_g$  was derived from observed dietary  $NE_m$  using the equation  $NE_g = 0.877NE_m - 0.41$  [24].

## 2.4. Carcass Evaluation

All steers were harvested on the same day at a government-certified (TIF) commercial abattoir. Hot carcass weights (HCWs) were obtained from all steers at the time of harvest. After carcasses were chilled at -2 °C to 1 °C for 48 h, the following measurements were obtained: (1) Longissimus muscle area (LM), taken by direct grid reading at the 12th rib; (2) subcutaneous fat over the LM muscle at the 12th rib taken at a location three-quarters of the lateral length from the chin bone end; (3) kidney, pelvic, and heart fat (KPH) as a percentage of carcass weight; (4) marbling score [25]. Estimated retail yield of boneless, closely trimmed retail cuts from the round, loin, rib, and chuck (% of HCW) was estimated as follows: retail yield =  $52.56 - 1.95 \times \text{subcutaneous fat} - 1.06 \times \text{KPH} + 0.106 \times \text{LM area} - 0.018 \times \text{HCW}$  [25].

## 2.5. Statistical Analyses

Growth performance data (gain, gain efficiency, and dietary energetics) were analyzed as a randomized complete block design, with pen as the experimental unit. Carcass data were analyzed using the MIXED procedure [26], with treatment and pen as fixed effects and interaction treatment  $\times$  pen and individual carcasses within pen by treatment subclasses as

random effects. For comparing DM intake pattern, equality of mean effects and homogeneity between variances (CV1 vs. CV2) were tested using Brown and Forsythe's variation of Levene's test. In all cases, the least squares mean and standard error are reported; contrasts were considered significant when  $p \leq 0.05$ , and tendencies were identified when  $0.05 < p \leq 0.10$ .

### 3. Results

There was no morbidity or mortality during the course of the study. On the basis of measures of feed intake (Table 2), average daily intake of the combination of MON + VM was 326 mg/day (equivalent to 0.787 mg/kg LW). Average daily intake of EO was 948 mg/day (2.3 mg/kg LW), and intake of HyD averaged 0.95 mg/day (0.0023 mg/kg LW).

**Table 2.** Effect of treatments on growth-performance and dietary energy of finishing cattle.

Item	Treatments †			SEM	p-Value
	MON + VM	EO + HyD			
Days on test	87	87			
Pen replicates	9	9			
Live weight, kg/day §					
Initial	349.43	349.74	3.153	0.98	
Final	472.80	474.41	5.180	0.69	
Average daily gain, kg/day	1.418	1.433	0.041	0.67	
Dry matter intake, kg/day	7.855	7.965	0.202	0.64	
Daily DM intake variation, %	3.88	11.37	3.96	0.04	
Feed efficiency, kg/kg	0.181	0.180	0.002	0.17	
Diet net energy, Mcal/kg					
Maintenance	2.26	2.25	0.023	0.67	
Gain	1.57	1.56	0.017	0.67	
Observed-to-expected diet NE, Mcal/kg					
Maintenance	1.056	1.052	0.009	0.67	
Gain	1.076	1.070	0.012	0.67	
Observed-to-expected DMI	0.936	0.940	0.009	0.67	

† MON = monensin 20 g/ton; MON + VM = combined 20 g monensin + 20 g virginiamycin/ton; EO + HyD = standardized source of a mixture of essential oils (CRINA Ruminants; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) plus 25-hydroxy-vitamin-D3 (Hy-D; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) formulated to provide 120 mg/kg diet EOC plus 0.12 mg/kg diet HyD. § Initial shrunk weight is the full live weight reduced 4% to adjustment for gastrointestinal fill; final weight was registered after 16 h of fasting.

Treatment effects on growth performance and dietary energetics are shown in Table 2. There was no treatment effect on dry matter intake (DMI,  $p = 0.64$ ) averaging  $7.91 \pm 0.617$  kg/day. However, the coefficient variation in day-to-day DMI was greater (294%,  $p < 0.04$ ) for EO + HyD than for MON + VM. There were no treatment effects on daily gain ( $p = 0.67$ ), gain-to-feed ratio ( $p = 0.17$ ), and estimated dietary net energy values ( $p = 0.86$ ). Estimated dietary net energy based on growth performance averaged 5.4% greater than expected according to tabular values [19] and diet formulation (Table 1).

Treatment effects on carcass characteristics are shown in Table 3. Cattle supplemented with EO + HyD had greater LM area (7.9%,  $p < 0.01$ ) and estimated retail yield (1.6%,  $p = 0.03$ ), and they tended to have heavier (1.7%,  $p = 0.10$ ) carcass weight. Differences among treatments in dressing percentage, fat thickness, KPH, and marbling score were not significant ( $p > 0.10$ ).

**Table 3.** Effect of treatments on carcass characteristics of finishing cattle.

Item	Treatments †			p-Value
	MON + VM	EO + HyD	SEM	
Hot carcass weight, kg	300.93	306.13	2.89	0.10
Dressing percentage	63.65	64.53	0.47	0.17
Cold carcass weight, kg	297.87	301.53	2.88	0.12
Cooler shrink, %	1.38	1.51	0.091	0.32
LM area, cm <sup>2</sup>	82.77	89.89	2.39	<0.01
Fat thickness, cm	0.74	0.69	0.042	0.39
Kidney pelvic and heart fat, %	1.73	1.65	0.050	0.53
Marbling score §	171	188	12.1	0.33
Retail yield *	52.63	53.51	0.21	0.03

† MON = monensin 20 g/ton; MON + VM = combined 20 g monensin + 20 g virginiamycin/ton; EO + HyD = standardized source of a mixture of essential oils (CRINA Ruminants; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) plus 25-hydroxy-vitamin-D3 (Hy-D; DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) formulated to provide 120 mg/kg diet EOC plus 0.12 mg/kg diet HyD. § Estimated marbling grade coded as standard <300, minimum slight = 300, or minimum small = 400. \* Estimated retail yield of boneless, closely trimmed retail cuts from the round, loin, rib, and chuck (% of HCW) was estimated as follows: retail yield = 52.56 – 1.95 × subcutaneous fat – 1.06 × KPH + 0.106 × LM area – 0.018 × HCW [25].

#### 4. Discussion

The daily dose of MON plus VM (0.787 mg/kg LW) was within the suggested dosage range for increased average daily gain and gain-to-feed ratio when both additives are fed in combination [8,27]. Optimal dosage of EO + HyD has not been established for feedlot cattle. However, the daily dosages of EO (3 mg/kg LW) and HyD (0.003 mg/kg LW) were within the range of levels previously shown to enhance growth performance and/or carcass characteristics when offered separately in high-energy finishing diets [15,28].

One of the reasons for ionophore supplementation of high-energy finishing diets is a reduction in the variation of daily feed intake [29,30], as day-to-day variation in feed intake is thought to be a contributing factor to subclinical acidosis [31,32]. Consistent with the present study, Barreras et al. [33] observed a threefold reduction in DMI variation for cattle fed MON vs. non-supplemented diets. Variations in DMI of up to 15% did not appreciably affect ADG and gain efficiency [34]. In the same manner, Barajas et al. [35] observed that day-to-day DMI fluctuations up to 20% did not affect gain efficiency. Accordingly, it may be expected that the intake variation of 11.4% observed for the EO + HyD combination was not sufficient to appreciably affect growth performance.

When supplemented alone, MON decreases DM intake by an average of 3.1% [36], whereas VM supplementation alone does not reduce DMI [37]. There are few reports evaluating the effects of MON + VM combination on cattle growth performance. However, consistently with the present study, most reports [5,6,38] found that the combination did not affect daily DMI, although Benatti et al. [27] observed decreased DMI in feedlot cattle supplemented with MON + VM.

As mentioned previously, there are no previously reported studies evaluating the effects of EO + HyD combination on feedlot cattle growth performance. Essential oils are, by nature, volatile and aromatic and, as such, are claimed to enhance diet acceptability, promoting voluntary feed intake [39]. However, when supplemented separately, the blend of EO used in

the present study did not increase the feed intake of feedlot cattle [40–42] or feedlot lambs [13,43]. Similarly, HyD supplementation alone did not increase DMI of feedlot cattle [15,16].

Except for Rigueiro et al. [37], the majority of studies reported enhancements in daily gain and gain efficiency for the combination of MON + VM than when supplemented separately [3]. The positive effects of MON and VM on energetic efficiency in ruminants have been extensively studied. The main effects include reductions in acetate-to-propionate ratio and methane production, decreased ruminal protein degradation, increased N retention, and improved intestinal health, promoting greater nutrient absorption [44–46]. Essential oils, likewise, have antimicrobial properties comparable to those of ionophores and VM. Additionally, they are observed to enhance immune response and reduce cellular oxidative stress [11,47,48]. Vitamin D3 at high levels of supplementation (i.e.,  $\geq 1$  mg/animal/day) is active in immune and endocrine functions [49] and in mechanisms that promote protein accretion [17]. All of these enhancements associated with supplemental MON, VM, EO, and HyD help to facilitate feedlot cattle energetic efficiency.

Estimation of dietary net energy based on measures of growth performance (observed dietary NE) permits the comparison with expected based on diet composition and tabular feed standards [19]. A ratio of observed-to-expected dietary NE ratio of 1.00 indicates that growth performance (daily gain) is consistent with theoretical dietary NE values (based on feed standard tables [19], Table 1) and observed DMI. A ratio greater than 1.00 is indicative of greater dietary energy utilization efficiency, while an observed-to-expected ratio less than 1.00 indicates less efficient dietary energy utilization. This study did not include a negative control (with no treatment additives); thus, direct net additive responses are uncertain. However, on the basis of observed-to-expected dietary net energy, efficiency of energy utilization for cattle fed MON + VM was 5.6% greater than expected, while energetic efficiency of cattle receiving the EO + HyD combination was 5.2% greater than expected. The observed increase in the ratio of observed-to-expected dietary net energy for MON + VM combination is in close agreement with the increase of 5.9% reported by Nuñez et al. [50] for the combination of VM plus the ionophore salinomycin. According to meta-analyses, Duffield et al. [36] observed that supplemental MON alone increase efficiency by an average of 3.5%. The average increase in energetic efficiency due to supplemental VM alone averaged 4.1% [1,3,45,51,52]. Therefore, the increase in efficiency above the expected values when both additives are supplemented separately could confirm the complementary effect of the combination observed both in this experiment and in previous reports [6,27,53]. On the other hand, using performance data from several reports in feedlot cattle [12,14,40,41,54,55], the average increase of estimated dietary net energy due to supplemental EO alone was 3.6%. Supplemental HyD, alone, has not been found to affect efficiency of energy utilization [15,56].

When supplemented alone, the effects of EO on carcass characteristics was not appreciable in feedlot cattle [12,57] and finishing lambs [13,43]. The NASEM [19] does not report vitamin D equivalents for a majority of dietary ingredients. Consequently, it may be considered that supplemental HyD represents the total quantity of vitamin D ingested. Supplementation with HyD at 0.12 mg vitamin D/kg diet DM (equivalent to 4800 IU vitamin D3/kg diet DM) is equivalent to 2.2-fold the suggested allowance [58]. High-level short-term (i.e., 10 days) supplementation with vitamin D3 prior to slaughter has been suggested as a means for increasing calcium uptake, thereby enhancing meat tenderness [59]. However, effects on meat tenderness were not appreciable [60] when D3 was supplemented at high levels for longer durations (i.e., 67 days). More recently [49,61], the importance of additional vitamin D3

supplementation for livestock health and productivity was highlighted. However, the benefits of additional vitamin D3 supplementation to feedlot cattle on growth performance and carcass characteristics are inconsistent. Dosages of up to 125 mg/animal/day for 8 days previous to slaughter had negative effects on DMI, ADG, and feed efficiency [62]. However, daily dosage of 12 mg/day or lower did not adversely affect performance or carcass characteristics [62,63]. Long-term vitamin D3 supplementation (160 days) at moderate levels (from 0.04 to 0.05 mg/day) was not beneficial for enhancement of cattle growth performance or carcass characteristics [64,65]. In contrast, daily supplementation at higher levels (~1 mg/animal) increased carcass dressing percentage (+0.54 percentage points) [16] and carcass weight (+1.49%) [15] in Nellore cattle during a finishing period of at least 90 days. These effects can be partially explained by the potentiating effects of higher-level vitamin D3 supplementation on protein accretion [17]. The basis for the increase in LM area in cattle fed EO + HyD is not clear. In earlier studies, supplemental EO alone [28,66] or supplemental HyD alone did not affect LM area [14–16]. More research related to this topic is necessary to corroborate the results obtained herein.

## 5. Conclusions

It is concluded that growth performance responses and dietary energetics are similar for finishing cattle supplemented with EO + HyD vs. MON + VM. However, compared with MON + VM, supplementation with EO + HyD during the finishing phase may improve carcass LM area and carcass yield.

**Author Contributions:** Conceptualization, methodology, supervision, visualization, and writing—review and editing, A.P. and A.E.-A.; writing—review and editing final version of the manuscript, R.A.Z.; data curation and statistical analyses, A.B. and M.A.R.-G.; investigation, D.A.M.-C., J.L.R.M., Y.J.A.-W., J.D.U.-E., B.I.C.-P., and F.G.R.-R. All authors read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was partially supported by DSM Nutritional Products, México.

**Institutional Review Board Statement:** The experimental protocol was approved by the Universidad Autonoma de Sinaloa Animal Use and Care Committee (Protocol #21092021).

**Informed Consent Statement:** Not applicable

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** Appreciation is expressed to CONACYT, Mexico, for fellowship support (CVU 927615) to Daniel A. Mendoza-Cortéz. The authors thank the support received by the commercial feedlot ‘Ganadera Rubios’ during the development of the experiment.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References

1. Montano, M.F.; Manriquez, O.M.; Salinas-Chavira, J.; Torrentera, N.; Zinn, R.A. Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. *J. Appl. Anim. Res.* **2015**, *43*, 417–425. <https://doi.org/10.1080/09712119.2014.978785>.
2. Salinas-Chavira, J.; Barreras, A.; Plascencia, A.; Montano, M.F.; Navarrete, J.D.; Torrentera, N.; Zinn, R.A. Influence of protein nutrition and virginiamycin supplementation on feedlot growth-performance and digestive function of calf-fed Holstein steer. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94*, 4276–4286. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0576>.

3. Tedeschi, L.O.; Gorocica-Buenfil, M.A. An assessment of the effectiveness of virginiamycin on liver abscess incidence and growth performance in feedlot cattle: A comprehensive statistical analysis. *J. Anim. Sci.* **2018**, *96*, 2474–2489. <https://doi.org/10.1093/jas/sky121>.
4. Lemos, B.J.M.; Castro, F.G.F.; Santos, L.S.; Mendoça, B.P.C.; Couto, V.R.M.; Fernandes, J.J.R. Monensin, virginiamycin, and flavomycin in a no-roughage finishing diet fed to zebu cattle. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94*, 4307–4314. <https://doi.org/10.2527/jas.20160504>.
5. Erasmus, L.J.; Muya, C.; Erasmus, S.; Coertze, R.F.; Catton, D.G. Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. *Livest. Sci.* **2008**, *119*, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.03.005>.
6. da Fonseca, M.P.; Borges, A.L.C.C.; e Silva, R.R.; Lage, H.F.; Ferreira, A.L.; Lopes, F.C.F.; Pancoti, C.G.; Rodrigues, J.A.S. Intake, apparent digestibility, and methane emission in bulls receiving a feed supplement of monensin, virginiamycin, or a combination. *Anim. Prod. Sci.* **2016**, *56*, 1041–1045. <https://doi.org/10.1071/AN14742>.
7. Gorocica, M.A.; Tedeschi, L.O. Virginiamycin increases performance and carcass weight of feedlot cattle under Mexican conditions. *J. Anim. Sci.* **2017**, *95* (Suppl. 4), 243. <https://doi.org/10.2527/asasann.2017.498>.
8. Hecker, J.C.; Neumann, M.; Ueno, R.K.; Falbo, M.K.; Galbeiro, S.; de Souza, A.M.; Venancio, B.J.; Santos, L.C.; Askel, E.J. Effect of monensin sodium associative to virginiamycin and/or essential oils on the performance of feedlot finished steers. *Semin. Ciências Agrárias Londrina* **2018**, *39*, 261–274. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n1p261>.
9. Lillehoj, H.; Liu, Y.; Calsamiglia, S.; Fernandez-Miyakawa, M.E.; Chi, F.; Cravens, R.L.; Oh, S.; Gay, C.G. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Vet. Res.* **2018**, *49*, 76. <https://doi.org/10.1186/s13567-0180562-6>.
10. McIntosh, F.M.; Williams, P.; Losa, R.; Wallace, R.J.; Beever, D.A.; Newbold, C.J. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 5011–5014. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003>.
11. Koyunco, M.; Canbolat, O. Effect of carvacrol on intake, rumen fermentation, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. *J. Appl. Anim. Res.* **2010**, *38*, 245–248. <https://doi.org/10.1080/09712119.2010.10539519>.
12. Meschiatti, M.A.P.; Gouvea, V.N.; Pellerini, L.A.; Batalha, C.D.A.; Bielhl, M.V.; Acedo, T.S.; Dórea, J.R.R.; Tamasia, L.F.M.; Owens, F.N.; Santos, F.A.P. Feeding the combination of essential oils and exogenous amylase increases performance and carcass production of finishing cattle. *J. Anim. Sci.* **2019**, *97*, 456–471. <https://doi.org/10.1093/jas/sky415>.
13. Arteaga-Wences, Y.J.; Estrada-Angulo, A.; Gerardo-Ríos, F.G.; Castro-Pérez, D.A.; Mendoza-Cortez, D.A.; Manriquez-Núñez, O.M.; Barreras, A.; Corona-Gochi, L.; Zinn, R.A. The effects of feeding a standardized mixture of essential oils vs monensin on growth performance, dietary energy and carcass characteristics of lambs fed a high-energy finishing diet. *Small Rumin. Res.* **2021**, *205*, 106557. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106557>.
14. Gouvêa, V.N.; Meschiatti, M.A.; Moraes, J.M.M.; Batalha, C.D.A.; Dórea, J.R.R.; Acedo, T.S.; Tamassia, L.F.M.; Owens, F.N.; Santos, F.A.P. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. *J. Agric. Sci.* **2019**, *157*, 456–468. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000728>.
15. Carvalho, V.V.; Perdigão, A. Supplementation of 25-hydroxy-vitamin-D3 and increased vitamin E as a strategy to increase carcass weight of feedlot beef cattle. *J. Anim. Sci.* **2019**, *97* (Suppl. 3), 440. <https://doi.org/10.1093/jas/skz258.871>.
16. Acedo, T.S.; Gouvêa, V.N.; Vasconcellos, G.M.; Arrigoni, M.; Martins, C.L.; Millen, D.D.; Muller, L.R.; Melo, G.F.; Rizzieri, R.A.; Costa, C.F.; et al. Effect of 25-hydroxy-vitamin-D3 on feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **2018**, *96* (Suppl. 3), 447–448. <https://doi.org/10.1093/jas/sky404.977>.
17. Martins, T.E.; Acedo, T.S.; Gouvêa, V.N.; Vasconcellos, G.M.; Arrigoni, M.; Martins, C.L.; Millen, D.D.; pai, M.D.; Perdigão, A.; Melo, G.F.; et al. Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on gene expression of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **2020**, *98* (Suppl. 4), 302–303. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.542>.
18. NOM. Normas Oficiales Mexicanas. Diario Oficial de la Federación. (NOM-051-ZOO-1995, NOM-033-ZOO-1995) Trato Humanitario de Animales de Producción, de Compañía y Animales Silvestres Durante el Proceso de Crianza, Desarrollo de Experimentos, Movilización y Sacrificio. 1995. Available online: <http://dof.gob.mx/> (accessed on 9 September 2020).
19. National Academy of Sciences Engineering Medicine. *Nutrient Requirement of Beef Cattle*, 8th ed.; National Academy Science of Sciences Engineering Medicine (NASEM): Washington, DC, USA, 2016.
20. Association of Official Analytical Chemists. *Official Method of Analysis*, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists (AOAC): Washington, DC, USA, 2005.
21. National Academy of Sciences Engineering Medicine. *Nutrient Requirement of Beef Cattle*, 7th ed.; National Academy Science of Sciences Engineering Medicine (NASEM): Washington, DC, USA, 2000.

22. National Academy of Sciences Engineering Medicine. *Nutrient Requirement of Beef Cattle*, 6th ed.; National Academy Science of Sciences Engineering Medicine (NASEM): Washington, DC, USA, 1984.
23. Zinn, R.A.; Shen, Y. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* **1998**, *76*, 1280–1289. <https://doi.org/10.2527/1998.7651280x>.
24. Zinn, R.A.; Barreras, A.; Owens, F.N.; Plascencia, A. Performance by feedlot steers and heifers: ADG, mature weight, DMI and dietary energetics. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86*, 2680–2689. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0561>.
25. USDA. *United States Standards for Grading of Carcass Beef*; Agric. Marketing Service: Washington, DC, USA, 1997.
26. Statistical Analytical System. *SAS Proprietary Software Release 9.3*; SAS Institute Inc. (SAS): Cary, NC, USA, 2004.
27. Benatti, J.M.; Neto, J.A.; Oliveira, L.M.; Resende, F.D.; Siqueira, G.R. Effect of increasing monensin sodium levels in diets with virginiamycin on the finishing of Nellore cattle. *Anim. Sci. J.* **2017**, *88*, 1709–1714. <https://doi.org/10.1111/asj.12831>.
28. Toseti, L.B.; Goulart, R.S.; Gouvêa, V.N.; Acedo, T.S.; Guillerme, S.F.M.; Pires, A.V.; Leme, P.R.; Netto, A.S.; Silva, S.L. Effects of a blend essential oils and exogenous  $\alpha$ -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2020**, *269*, 114643. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114643>.
29. Gibb, D.J.; Moustafa, S.M.S.; Wiedmeier, R.D.; McCallister, T.A. Effect of salinomycin or monensin on performance and feeding behavior of cattle fed wheat- or barley-based diets. *Can. J. Anim. Sci.* **2001**, *81*, 253–261. <https://doi.org/10.4141/A00-057>.
30. Teixeira, D.A.A.; Capelloza, B.I.; Fernandes, J.R.; Nascimento, K.S.; Bonfim, L.E.L.M.; Lopes, C.N.; Ehrhardt, J.A.C.; Peres, J.R.; Harris, S.A.; Simas, J.M.C.; et al. Effects of monensin source on in vitro rumen fermentation characteristics and performance of *Bos indicus* beef bulls offered a high-concentrate diet. *Transl. Anim. Sci.* **2020**, *4*, 84–94. <https://doi.org/10.1093/tas/txz158>.
31. Stock, R.; Klopfenstein, T.; Shain, D. Feed intake variation. In *Symposium; Feed Intake by Feedlot Cattle*; Oklahoma Agriculture Experimental Station, Stillwater, OK: 1995; Volume P-942, pp. 56–59.
32. Pritchard, R.H.; Burns, K. Controlling variation in feed intake through bunk management. *J. Anim. Sci.* **2003**, *81* ( Suppl. 2), E133–E138. [https://doi.org/10.2527/2003.8114\\_suppl\\_2E133x](https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E133x).
33. Barreras, A.; Castro-Pérez, B.I.; López-Soto, M.A.; Torrentera, N.G.; Montano, M.F.; Estrada-Angulo, A.; Ríos, F.G.; Davila-Ramos, H.; Plascencia, A.; Zinn, R.A. Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* **2013**, *26*, 1553–1561. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13216>.
34. Schwartzkopf-Genswein, K.S.; Beauchemin, K.A.; McAllister, T.A.; Gibb, D.J.; Streeter, M.; Kennedy, A.D. Effect of feed delivery fluctuations and feeding time on ruminal acidosis, growth performance, and feeding behavior of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **2004**, *11*, 3357–3365. <https://doi.org/10.2527/2004.82113357x>.
35. Barajas, R.; Alvarez, R.G.; Montaña, M.F.; Zinn, R.A. Influence of day-to-day fluctuation in feed intake on feedlot cattle growth performance and digestive function. *J. Anim. Vet. Adv.* **2008**, *7*, 816–821. Available online: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2008/816-821.pdf> (accessed on 9 February 2022).
36. Duffield, T.F.; Merrill, J.K.; Bagg, R.N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* **2012**, *90*, 4583–4592. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018>.
37. Rigueiro, A.L.N.; Squizatti, M.M.; Silvestre, A.M.; Pinto, A.C.J.; Estevan, D.D.; Felizari, L.D.; Dias, E.F.F.; Demartini, B.L.; Nunes, A.B.P.C.; Costa, V.C.M.; et al. The potential of shortening the adaptation of Nellore cattle to high-concentrate diets using only virginiamycin as sole feed additive. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 692705. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.692705>.
38. Maciel, I.C.F.; Saturnino, H.M.; Barbosa, F.A.; Malacco, V.M.R.; Andrade, J.M.C., Jr.; Maia, G.H.B.; Costa, P.M. Virginiamycin and sodium monensin supplementation for beef cattle on pasture. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **2008**, *71*, 1999–2008. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10659>.
39. Zeng, Z.; Zhang, S.; Wang, H.; Piao, X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2015**, *6*, 7. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0004-5>.
40. Benchaar, C.; Petit, H.V.; Berthiaume, R.; Ouellet, D.R.; Chiquette, J.; Chouinard, P.Y. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 886–897. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71572-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71572-2).
41. Meyer, N.F.; Erickson, G.E.; Klopfenstein, T.J.; Greenquist, M.A.; Luebke, M.K.; Williams, P.; Engstrom, M.A. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *J. Anim. Sci.* **2009**, *87*, 2346–2354. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1493>.

42. Rivaroli, D.C.; Prado, R.M.; Ornaghi, M.G.; Mottin, C.; Ramos, T.R.; Barrado, A.G.; Jorge, A.M.; Prado, I.N. Essential oils in the diet of crossbred (½ Angus vs. ½ Nellore) bulls finished in feedlot on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics. *J. Agric. Sci.* **2017**, *9*, 2015–2212. <https://doi.org/10.5539/jas.v9n10p205>.
43. Estrada-Angulo, A.; Arteaga-Wences, Y.J.; castro-Pérez, B.I.; Urías-Estrada, J.D.; Gaxiola-Camacho, S.; Angulo-Montoya, C.; Ponce-Barraza, E.; Barreras, A.; Corona, L.; Zinn, R.A.; et al. Blend of essential oils supplemented alone or combined with exogenous amylase compared with virginiamycin supplementation on finishing lambs. *Animals* **2021**, *11*, 2390. <https://doi.org/10.3390/ani11082390>.
44. Appuhamy, J.A.D.R.; Strathe, A.B.; Jayasundara, S.; Wagner-Riddle, C.; Dijkstra, J.; France, J.; Kebreab, E. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 5161–5173. <https://doi.org/10.3168/jds.20125923>.
45. Navarrete, J.D.; Montano, M.F.; Raymundo, C.; Salinas-Chavira, J.; Torrentera, N.; Zinn, R.A. Effect of energy density and virginiamycin supplementation in diets on growth performance and digestive function of finishing steers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* **2017**, *10*, 1396–1404. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0826>.
46. Robinson, K.; Becker, S.; Xiao, Y.; Lyu, W.; yang, Q.; Zhu, H.; Yang, H.; Zhao, J.; Zhang, G. Differential impact of subtherapeutic antibiotics and ionophores on intestinal microbiota of broilers. *Microorganisms* **2019**, *7*, 282. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6780560/pdf/microorganisms-07-00282.pdf> (accessed on 15 September 2021).
47. Samii, S.S.; Wallace, N.; Nagaraja, T.G.; Engstrom, M.A.; Miesner, M.D. Armendariz, C.K.; Titgemeyer, E.C. Effects of limonene on ruminal *Fusobacterium necrophorum* concentrations, fermentation and lysine degradation in cattle. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94*, 3420–3430. Available online: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/94/8/3420/4791547?redirectedFrom=fulltext> (accessed on 27 November 2021).
48. da Silva, R.; Pereira, M.N.; Araujo, C.R.; Silva, W.R.; Pereira, R.A.N. A blend of essential oils improved feed efficiency and affected ruminal and systemic variables of dairy cows. *Transl. Anim. Sci.* **2020**, *4*, 182–193. <https://doi.org/10.1093/tas/txz183>.
49. Nelson, C.D.; Reinhardt, T.A.; Lippolis, J.D.; sacco, R.E.; Nonnecke, B.J. Vitamin D signaling in the bovine immune system: A model for understanding human vitamin D requirements. *Nutrients* **2012**, *4*, 181–196. <https://doi.org/10.3390/nu4030181>.
50. Nuñez, A.J.C.; Caetano, M.; Berndt, A.; Demarchi, J.J.A.A.; Leme, P.R.; Lanna, D.P.D. Combined use of ionophore and virginiamycin for finishing Nellore steers fed high concentrate diets. *Sci. Agric.* **2013**, *70*, 229–236. <https://doi.org/10.1590/S010390162013000400002>.
51. Rogers, J.A.; Branine, M.E.; Miller, C.R.; Wray, M.I.; Bartle, S.J.; Preston, R.L.; Gill, D.R.; Pritchard, R.H.; Stilborn, R.P.; Bechtol, D.T. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 9–20. <https://doi.org/10.2527/1995.7319>.
52. Salinas-Chavira, J.; Lenin, J.; Ponce, E.; sanchez, U.; Torrentera, N.; Zinn, R.A. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* **2009**, *87*, 4101–4108. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0826>.
53. Neumann, M.; Pontarolo, G.B.; Cristo, F.B.; Venancio, B.J.; Manchur, A.D.; Ueno, R.K.; Souza, A.M.; Moresco, E.M.; Czelusniak, C. Associative effect of monensin sodium to virginiamycin on the performance of beef steers in the initial feedlot phase. *Semin. Ciências Agrárias Londrina* **2020**, *41*, 2349–2364. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n5supl1p2349>.
54. Araujo, R.C.; Daley, D.R.; Goodall, S.R.; Jalali, S.; Guimarães Bisneto, A.; Budde, A.M.; Wagner, J.J.; Engle, T.E. Effects of a microencapsulated blend of essential oils supplemented alone or in combination with monensin on performance and carcass characteristics of growing and finishing beef steers. *Appl. Anim. Sci.* **2019**, *35*, 177–184. <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01822>.
55. de Souza, K.A.; Monsteschio, J.O.; Mottin, C.; Ramos, T.R.; Pinto, L.A.M.; Eiras, C.E.; Guerrero, A.; Prado, I.N. Effects of diet supplementation with clove and rosemary essential oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass characteristics, digestibility, and ingestive behavior activities for Nellore heifers finished in feedlot. *Livest. Sci.* **2019**, *220*, 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.026>.
56. Pickworth, C.L.; Loerch, S.C.; Fluharty, F.L. Restriction of vitamin A and D in beef cattle finishing diets on feedlot performance and adipose accretion. *J. Anim. Sci.* **2012**, *90*, 1866–1878. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3590>.
57. Wilson, H.C.; Hilscher, F.H.; Boyd, B.M.; Watson, A.K.; McDonald, J.C.; Erickson, G.E. Impact of essential oils blend on beef cattle performance and carcass characteristics in diets with increasing corn silage inclusions. *Neb. Beef Cattle Rep.* **2020**, *1076*, 71–74. Available online: <https://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/1076> (accessed on 7 July 2021).
58. National Academy of Sciences Engineering Medicine. *Vitamin Tolerance of Animals*; National Academy Science of Sciences Engineering Medicine (NASEM): Washington, DC, USA, 1987.



59. Półtorak, J.R.; Moczowska, M.; Wyrwisz, J.; Wierzbicka, A. Beef tenderness improvement by dietary vitamin D3 supplementation in the last stage of fattening of cattle. *J. Vet. Res.* **2017**, *61*, 59–67. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0008>.
60. Baldin, S.; Domingues, D.; Ludovico, C.; Cravo, A.S.; Sfaciotti, R.; Arrigoti, M. Feedlot performance, carcass characteristics and meat quality of Nellore and Canchim bulls fed diets supplemented with vitamins D and E. *Acta Sci. Anim. Sci.* **2013**, *35*, 403–410. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v35i4.18801>.
61. Nelson, C.D.; Lippolis, J.D.; Reinhardt, T.A.; Sacco, R.E.; Powell, J.L.; Drewnosky, M.E.; O'Neil, M.O.; Beits, D.C.; Weiss, W.P. Vitamin D status of dairy cattle: Outcomes of current practices in the dairy industry. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 10150–10160. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11727>.
62. Montgomery, J.L.; Parrish, F.C., Jr.; Beitz, D.C.; Horst, R.L.; Huff-Lonergan, E.J.; Trenkle, H. The use of vitamin D3 to improve beef tenderness. *J. Anim. Sci.* **2000**, *78*, 2615–2621. <https://doi.org/10.2527/2000.78102615x>.
63. Aranda-Osorio, G.; Olkowski, A.A.; McAllister, T.A.; Van Kessel, A.; McKinnon, J.J. Effect of supplementing high levels of vitamin D3 on calcium homeostasis of steers fed barley-based finishing diets. *Can. J. Anim. Sci.* **2004**, *84*, 81–89. <https://doi.org/10.4141/A03-066>.
64. Korn, K.T.; Lemenager, R.P.; Claeys, M.C.; Engstrom, M.; Schoonmaker, J.P. Supplemental vitamin D3 and zilpaterol hydrochloride. I. Effect on performance carcass traits, tenderness, and vitamin D metabolites of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* **2013**, *91*, 3322–3331. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5960>.
65. McCarthy, K.L.; Underdahl, S.R.; Dahlen, C.R. Effects of a vitamin and mineral bolus on beef heifer feedlot performance, feeding behavior, carcass characteristics, and liver mineral concentrations. *Transl. Anim. Sci.* **2020**, *4*, 876–882. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa027>.
66. Pukrop, J.R.; Campbell, B.T.; Schoonmaker, J.P. Effect of essential oils on performance, liver abscesses, carcass characteristics, and meat quality in feedlot steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2019**, *257*, 11496. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114296>.

## CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES

La combinación de una mezcla de aceites esenciales más 25-hidroxivitamina-D3 (EO+HyD) puede ayudar a optimizar el rendimiento del crecimiento y la eficiencia alimenticia del ganado de engorda expuesto a una alta carga de calor ambiental en comparación con la suplementación de monensina sódica, lo que demuestra ser potenciales sustitutos de los antibióticos promotores del crecimiento bajo estas condiciones climáticas.

Las respuestas del rendimiento productivo y la energía de la dieta a la suplementación con EO+HyD parecen ser más eficaces cuando el ganado está expuesto a una alta carga de calor ambiental, dado que los resultados muestran efectos similares frente al ganado suplementado con monensina más virginiamicina (MON+VM) en condiciones de termoneutralidad. Sin embargo, en comparación con MON+VM, la suplementación con EO+HyD durante la fase de finalización puede mejorar el área del ojo de la costilla y el rendimiento de la canal.

Estas diferencias en la respuesta del ganado suplementado con EO+HyD bajo distintas condiciones de temperatura pueden explicarse parcialmente por la atenuación en el incremento del requerimiento de mantenimiento que presenta en respuesta a los ajustes metabólicos dirigidos para la mitigación del calor ambiental, tales como son los incrementos en la frecuencia cardíaca, tasa respiratoria y de la producción de especies reactivas de oxígeno causantes del estrés oxidativo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la combinación EO+HyD es una alternativa viable para reemplazar a los aditivos convencionales (monensina sódica y virginiamicina) en la formulación de alimentos para bovinos de engorda finalizados en climas semiáridos y tropicales. Sin embargo, más estudios son necesarios para sustentar estos resultados.

## CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA

- Acedo, T., V. Gouvêa, G. Vasconcellos, M. Arrigoni, C. Martins, D. Millen, L. Muller, G. Melo, R. Rizzieri, C. Costa, A. Sartor. 2019. Effect of 25-hydroxyvitamin-D3 on feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 96:447-448.
- Adam, K., A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras, and M. Arsenakis. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem*. 46:1739-1745.
- Akram, M., M. Asgha, and H. Jalal. 2021. Essential oils as alternatives to chemical feed additives for maximizing livestock production. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 72:2595-2610.
- Ames, D. 1980. Thermal environment affects production efficiency of livestock. *BioScience*. 30:457-460.
- Anassori, E., D. Bahram, P. Rasoul, T. Akbar, A. Siamak, M. Masoud, F. Safa, and F. Parviz. 2011. Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen Modifier. *Livest. Sci*. 142:276-287.
- Arias, R., T. Mader and P. Escobar. 2008. Factores climaticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet*. 40:7-22.
- Arshad M., Z. Anjum, M. Asghar, and H. Bhatti. 2011. Improving bio-ethanol yield: using virginiamycin and sodium flouride at a Pakistani distillery. *Afr. J. Biotechnol*. 10:11071-11074.
- Azzaz, H., H. Murad, and T. Morsy. 2015. Utility of ionophores for ruminant animal. *Asian Journal of Animal Science*. 9:254-26.
- Bacha, F. 2020. Metabolismo de la vitamina D en vacas lecheras. *Nutrientes*. *NutriNews* Junio 2020. Disponible en: <https://nutrinews.com/download/BACHA-nutrinews-junio-2020-Metabolismo-vitamina-D-en-vacas-lecheras.pdf>.

- Bagg, R. 1997. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. In: usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. Guelph: Ontario Veterinary College. 1:13-21.
- Bampidis, V., V. Christodoulou, E. Christaki, P. Florou-Paneri, and A. Spais. 2005. Effect of dietary garlic bulb and garlic husk supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121:273-283.
- Bartley, E., T. Nagaraja, E. Pressman, A. Dayton, M. Katz, and L. Fina. 1983. Effects of lasalocid and monensin on legume or grain (feedlot) bloat. *J. Anim. Sci.* 56:1400-1406.
- Beauchemin, K., S. McGinn, and T. McAllister. 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 4:1-18.
- Beede, D., and R. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.* 62:543-554.
- Benchaar, C., H. Petit, R. Berthiaume, D. Ouellet, J. Chiquette, and P. Chouinard. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:886-897.
- Benchaar, C., J. Duynisveld, and E. Charmley. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86:91-96.
- Berg, J., and C. Scanlan. 1982. Studies of *Fusobacterium necrophorum* from bovine hepatic abscesses: Biotypes, quantitation, virulence, and antibiotic susceptibility. *Am. J. Vet. Res.* 43:1580-1586.
- Berry, I., M. Shanklin and H. Johnson. 1964. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. *Trans. ASAE.* 7:329-331.
- Bikle, D. 2014. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem. Biol.* 21:319-329.

- Borchers, R., 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. *J. Anim. Sci.* 24:1033-1038.
- Boselli, E. 1993. Virginiamycin effect on lactic acid production in the rumen, changes in VFA ratios after Virginiamycin supplementation. In: *Proceeding of the VII World Conference on Animal Production*, Edmonton, CA.
- Bouanchaud, D. H. 1997. Streptogramins: from parenteral to oral. *Infectious disease and therapy series.* 21:51-66.
- Brenes, A., and E. Roura. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology.* 158:1-14.
- Brent, B. 1976. Relationship of acidosis to other feedlot ailments. *J. Anim. Sci.* 43:930-935.
- Britton, R., and R. Stock. 1986. Acidosis, rate of starch digestion and intake. *Feed intake symposium.* 1:125-137.
- Broderick, G., and J. Balthrop. 1979. Chemical inhibition of amino acid deamination by ruminal microbes in vitro. *J. Anim. Sci.* 49:1101-1111.
- Brown, K., R. Uwiera, M. Kalmokoff, S. Brooks, and G. Inglis. 2017. Antimicrobial growth promoter use in livestock: A requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 49:12-24.
- Brown-Brandl, T., J. Nienaber, R. Eigenberg, T. Mader, J. Morrow, and J. Dailey. 2006. Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livest. Sci.* 105:19-26.
- Burrin, D., and R. Britton. 1986. Response to monensin in cattleduring subacute acidosis. *J. Anim. Sci.* 63: 888-893.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology.* 94:223-253.
- Busquet, M., H. Greathead, S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2003. Efecto del extracto de ajo y el cinemaldehido sobre la producción, composición y residuos en leche en vacas de alta producción. *TEA.* 24:756-758.
- Butaye, P., L. Devriese, and F. Haesebrouck. 1998. Effects of different test conditions on MICs of food animal growth-promoting antibacterial agents for enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 36:1907-1911.

- Caja, G., E. González, C. Flores, M. Carro, and E. Albanell. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. XIX Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España.
- Callaway, T., K. Adams, J. Russell. 1999. The ability of “low g + c gram-positive” ruminal bacteria to resist monensin and counteract potassium depletion. *Curr. Microbiol.* 39:226-230.
- Cardozo, P., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 84:2801-2808.
- Cardwell, G., J. Bornman, A. James, and L. Black. 2018. A Review of Mushrooms as a Potential Source of Dietary Vitamin D. *Nutrients.* 10:1498.
- Carrillo, H., O. Murillo, T. Herrera, C. Carrete, E. Reyes, and C. Livas. 2016. Rendimiento productivo y calidad de la canal de becerros alimentados con precursor glucogénico. *Abanico Veterinario.* 6:13-21.
- Carson, J., and P. Statham. 1993. The inhibition by ionophores in vitro of an Enterococcus-like pathogen of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Vet. Microbiol.* 36:253-259.
- Casas, E., J. Lippolis, L. Kuehn, and T. Reinhardt. 2015. Seasonal variation in vitamin D status of beef cattle reared in the central United States. *Domest. Anim. Endocrinol.* 52:71-74.
- Cashman, K. 2020. Vitamin D deficiency: defining, prevalence, causes, and strategies of addressing. *Calcif. Tissue Int.* 6:14-29.
- Castro, B., A. Estrada, F. Ríos, V. Núñez, C. Rivera, J. Urías, R. Zinn, A. Barreras, and A. Plascencia. 2020. The influence of shade allocation or total shade plus overhead fan on growth performance, efficiency of dietary energy utilization, and carcass characteristics of feedlot cattle under tropical ambient conditions. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 33:1034-1041.
- Castro, B., V. Núñez, A. Estrada, J. Urías, S. Gaxiola, M. Rodríguez, and A. Plascencia. 2021. Evaluation of standardized mixture of synbiotic-glyconutrients supplemented in lambs finished during summer season in tropical environment:

- growth performance, dietary energetics, and carcass characteristics. *Can. J. Anim. Sci.* 102:155-164.
- Celi, P., S. Williams, M. Engstrom, J. McGrath, and J. La. 2018. Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxy vitamin D3 in growing calves. *Food Chem. Toxicol.* 111:641-649.
- Cervantes, H., K. Bafundo, P. Ewing, G. Pesti, and R. Bakalli. 2002. Dietary supplementation with virginiamycin or phytase improves phosphorus utilization in broiler chicks. *Poult. Sci.* 81:150.
- Chauhan, S., P. Celi, B. Leury, I. Clarke, and F. Dunshea. 2014. Dietary antioxidants at supranutritional doses improve oxidative status and reduce the negative effects of heat stress in sheep. *J. Anim. Sci.* 92:3364-3374.
- Chaves, A., K. Stanford, L. Gibson, T. McAllister, and C. Benchaar. 2008. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 145:396-408.
- Chen, G., and J. Russell. 1991. Effect of monensin and a protonophore on protein degradation, peptide accumulation, and deamination by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 69: 2196-203.
- Chen, M., and M. Wolin. 1979. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 38:72-77.
- Chinali, G., E. Nyssen, M. Di Giambattista, and C. Cocito. 1988. Action of erythromycin and virginiamycin S on polypeptide synthesis in cell-free systems. *Biochim. Biophys. Acta.* 951:42-52.
- Christakos, S., P. Dhawan, A. Porta, L. Mady, and T. Seth. 2011. Vitamin D and intestinal calcium absorption. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 347:25-29.
- Clayton, E., I. Lean, J. Rowe, and J. Cox. 1999. Effects of feeding virginiamycin and sodium bicarbonate to grazing lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1545-1554.

- Cocito, C., H. Voorma, and L. Bosch. 1974. Interference of virginiamycin M with the initiation and the elongation of peptide chains in cell-free systems. *Biochim. Biophys. Acta.* 340:285-298.
- Cocito, C., M. Di Giambattista, E. Nyssen, and P. Vannuffel. 1997. The molecular mechanism of action of streptogramins and related antibiotics. *Infectious disease and therapy series.* 21:145-172.
- Coe, M., T. Nagaraja, Y. Sun, N. Wallace, E. Towne, K. Kemp, and J. Hutcheson. 1999. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. *J. Anim. Sci.* 77:2259-2268.
- Collier, R., G. Dahl, and M. VanBaale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244-1253.
- Collier, R., T. Bilby, M. Rhoads, L. Baumgard, and R. Rhoads. 2009. Effects of climate change on dairy cattle production. *Ann. Arid. Zone* 47:1-12.
- Conrad, J. 1985. Feeding of farm animals in hot and cold environments. In: Yousef MK (ed). *Stress Physiology in Livestock Volume II Ungulates.* 1:205-226.
- Cox, S., C. Mann, and J. Markham. 2001. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of applied microbiology.* 91:492-497.
- Czerkawski, J., and G. Breckenridge. 1972. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. *British Journal of Nutrition.* 27:131-146.
- Da Silva, R. 2006. Weather and climate and animal production. In: *Update of the guide to agricultural meteorological practices.* 134:1-36.
- Davidson, P., and A. Naidu. 2000. Phyto-phenols. *Natural food antimicrobial systems.* 226:284-287.
- Davis, M. 2001. Management strategies to reduce heat stress in feedlot cattle. The University of Nebraska-Lincoln, USA.
- Davis, M., T. Mader, S. Holt and A. Parkhurst. 2003. Strategies to reduce feedlot cattle heat stress: Effects on tympanic temperature. *J. Anim. Sci.* 81:649-661.



- Dellinger, C., and J. Ferry. 1984. Effect of monensin on growth and methanogenesis of *Methanobacterium formicum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:680-682.
- Dennis, S., T. Nagaraja, and E. Bartley. 1981. Effects of lasalocid or monensin on lactate-producing or using rumen bacteria. *Journal of Animal Science.* 52:418-426.
- Devriese, L., G. Daube, J. Homme, and F. Haesebrouck. 1993. In vitro susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from farm animals to growth-enhancing antibiotics. *J. Appl. Microbiol.* 75:55-57.
- Dhama, K., R. Tiwari, R. Khan, S. Chakraborty, M. Gopi, K. Karthik, M. Saminathan, P. Desingu, and L. Sunkara. 2014. Growth promoters and novel feed additives improving poultry production and health, bioactive principles and beneficial applications: the trends and advances—a review. *Inter. J. Pharmacol.* 10:129-159.
- Dinius, D., M. Simpson, and P. Marsh. 1976. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. *J. Anim. Sci.* 42:229-234.
- Dorman, H., and S. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology.* 88:308-316.
- Duffield, T., J. Merrill, and R. Bagg. 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 90:4583-4592.
- Durso, L., and K. Cook. 2014. Impacts of Antibiotic Use in Agriculture: What Are the Benefits and Risks? *Curr. Opin. Microbiol.* 19:37-44.
- Dutta, G., and L. Devriese. 1981a. Degradation of macrolide-lincosamide-streptogramin antibiotics by *Lactobacillus* strains from animals. *Ann. Microbiol.* 132:51-57.
- Dutta, G., and L. Devriese. 1981b. Sensitivity and resistance to growth promoting agents in animal lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 51:283-8.
- Dzik, K., and J. Kaczor. 2019. Mechanisms of vitamin D on skeletal muscle function: Oxidative stress, energy metabolism and anabolic state. *European Journal of Applied Physiology.* 119:825-839.

- Dzik, K., W. Skrobot, D. Flis, M. Karnia, W. Libionka, W. Kloc W, and J. Kaczor. 2018. Vitamin D supplementation attenuates oxidative stress in paraspinal skeletal muscles in patients with low back pain. *Eur. J. Appl. Physiol.* 118:143-151.
- European Union. (18 de octubre de 2003). Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union Legislation.* 46:29-43.
- FAO. 2009. La larga sombra del ganado. División de Comunicación. 1-493.
- Feed, O., F. Franco, P. García, and E. Krall. 2002. Efecto de la administración parental de vitamina D3 sobre los niveles de calcio sérico en vacas Hertford en pastoreo. X congreso latinoamericano de buiatría XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. 1:207-208.
- Feighner, S., and M. Dashkevicz. 1987. Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. *Applied and Environmental Microbiology.* 53:331-336.
- Foster, L., and W. Wood. 1970. Liver losses in finishing cattle. Nebraska beef cattle report. University of Nebraska-Lincoln. Abstract; 2-4.
- Frye, T., S. Williams, and T. Graham. 1991. Vitamin deficiencies in cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 7:217-275.
- Galyean, M., and F. Owens. 1988. Effects of monensin on growth, reproduction, and lactation in ruminants. In: *ISI Atlas of Science: Anim. Plant Sci.* 1:71-75.
- Gaughan, J., T. Mader, S. Holt, and A. Lisle. 2007. A new heat load index for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 86:226-234.
- Giannenas, I., E. Bonos, E. Christaki, and P. Florou-Paneri. 2013. Essential oils and their applications in animal nutrition. *Med. Aromat. Plants.* 2:2167-0412.
- Gil, A., J. Plaza, and M. Mesa. 2018. Vitamin D: classic and novel actions. *Ann. Nutr. Metab.* 72:87-95.
- Glancy, B., and R. Balaban. 2012. Role of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> in the regulation of cellular energetics. *Biochemistry.* 51:2959-2973.

- Goodrich, R., J. Garrett, D. Ghast, M. Kirich, D. Larson, and J. Meiske. 1984. Influence of monensin on the performance of cattle. *J. Anim. Sci.* 58:1484-1498.
- Gouvêa, V., G. Vasconcellos, T. Acedo, and L. Tamassia. 2019. The 25-hydroxyvitamin D3 supplementation improves animal performance of Nelore cattle grazed in tropical grass. *Journal of Animal Science.* 97:161-161.
- Griffin, S., S. Wyllie, J. Markham, and D. Leach. 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal.* 14:322-332.
- Grozina, A., V. Pronin, and M. Dyumin. 2014. Morphological evaluation of the intestinal wall chicken cross "COBB 500" on the background use of antibiotic and probiotics. *Russ. Vet. Zh.* 4:16-17.
- Guo, J., A. Jones, D. Givens, J. Lovegrove, and K. Kliem. 2018. Effect of dietary vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 supplementation on plasma and milk 25-hydroxyvitamin D3 concentration in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:3545-3553.
- Gustafson, R., and R. Bowen. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal of applied microbiology.* 83:531-541.
- Gutiérrez, M., A. García, M. de Madariaga, M. Sagrista, F. Casadó, and M. Mora. 2003. Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. *Life Sciences.* 72:2337-2360.
- Habeeb, A., I. Marai, and T. Kamal. 1992. Heat stress. In: *Farm animals and the environment*, edited by C. Philips and D. Piggens. CAB International. 1:27-47.
- Hahn, G. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Dairy Sci.* 82: 10-20.
- Hahn, G., and B. Becker. 1984. Assessing livestock stress. *Agric. Eng.* 65:15-17.
- Hahn, G., and T. Mader. 1997. Heat waves and their relation to thermoregulation, feeding behavior and mortality of feedlot cattle. *Proc. 5th Int.* 1:563-571.
- Hamden, K., S. Carreau, K. Jamoussi, S. Miladi, S. Lajmi, D. Aloulou, F. Ayadi, and A. Elfeki. 2009. 1 $\alpha$ ,25 dihydroxyvitamin D3: therapeutic and preventive effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic and renal injury in alloxan-induced diabetes in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 55:215-222.

- Harborne, J., and C. Williams. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55:481-504.
- Hart, K., D. Yañez-Ruiz, S. Duvel, N. McEwan, and C. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Tech.* 147:8-35.
- Hay, R., and P. Waterman. 1993. Volatile oil crops: their biology. *Biochemistry and production*. 1:185.
- Hedde, R., D. Armstrong, R. Parish, and R. Quach. 1980. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. *J. Animal Sci.* 51:366-367.
- Hegarty, R. 1999. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*. 50:1321-1327.
- Herd, T., and H. Stowe. 1991. Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 7:391-415.
- Hill, J., P. Lima, S. Funayama, W. Hartmann, and C. Gugelmin. 2002. Efeito da Virginiamicina, via oral, sobre produção de ácidos graxos voláteis, pH ruminal e pH de fezes em vacas leiteiras. *Ciência & Cultura*. 31:53-59.
- Hoffmann, C., and A. Evans. 1911. The Use of Spices as Preservatives. *Industrial & Engineering Chemistry*. 3:835-838.
- Holick, M., J. Maclaughlin, M. Clark, S. Holick, J. Potts, R. Anderson, I. Blank, J. Parrish, and P. Elias. 1980. Photosynthesis of Previtamin D3 in Human Skin and the Physiologic Consequences. *Science*. 210:203-205.
- Honeyfield, D., J. Carlson, M. Nocerini, and R. Breeze. 1985. Duration and inhibition of 3-methylindoleproduction by monensin. *J. Anim. Sci.* 60:226-231.
- Hoyzman, A., A. Staroselsky, and K. Tarasova. 2011. Effect of the Stafac®110 preparation on the productivity of broiler chickens. *Zhivotnovodstvo*. 9:22-23.
- Hulbert, L., and S. Moisé. 2016. Stress, immunity, and the management of calves. *J. Dairy Sci.* 99:3199-3216.
- Hurst, A., N. Homer, and R. Mellanby. 2020. Vitamin D Metabolism and Profiling in Veterinary Species. *Metabolites*.10:371.
- Husain, K., L. Ferder, M. Mizobuchi, J. Finch, and E. Slatopolsky. 2009. Combination therapy with paricalcitol and enalapril ameliorates cardiac oxidative injury in uremic rats. *Am. J. Nephrol.* 29:465-472.

- Hutjens, M. 1991. Feed additives. *Vet. Clinics North Am.: Food Anim. Pract.* 7:525-540.
- Ives, S., E. Titgemeyer, T. Nagaraja, A. del Barrio, D. Bindel, and L. Hollis. 2002. Effects of virginiamycin and monensin plus tylosin on ruminal protein metabolism in steers fed corn-based finishing diets with or without wet corn gluten feed. *J. Anim. Sci.*, 80:3005-3015.
- Jäpelt, R., and J. Jakobsen. 2013. Vitamin D in plants: A review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front. Plant. Sci.* 4:136.
- Johnson, K., and D. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483-2492.
- Jones, G., D. Prosser, and M. Kaufmann. 2014. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J. Lipid. Res.* 55:13-31.
- Juven, B., J. Kanner, F. Schved, and H. Weisslowicz. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied bacteriology.* 76:626-631.
- Kanoe, M., H. Imagawa, M. Toda, A. Sat, and M. Inoue. 1976. Bacteriology of bovine hepatic abscesses. *Japanese Journal of Veterinary Science.* 38:263-268.
- Katz, M., T. Nagaraja, and L. Fina. 1986. Ruminal changes in monensin and lasalocid fed cattle grazing bloatprovocative alfalfa pasture. *J. Anim. Sci.* 63:1246-1257.
- Kausar, R., and S. Imran. 2024. Heat Stress Mitigation through Feeding and Nutritional Interventions in Ruminants. *IntechOpen.* Available in: <https://www.intechopen.com/online-first/1187879>.
- Khalifa, H. 2003. Bioclimatology and adaptation of farm animals in a changing climate. In: *Interactions between climate and animal production.* 7:15-29.
- Klevenhusen, F., J. Zeitz, S. Duvalb, M. Kreuzera, C. Solivaa. 2011b. Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.* 166:356-363.
- Klevenhusen, F., L. Meile, M. Kreuzer, and C. Soliva. 2011a. Effects of monolaurin on ruminal methanogens and selected bacterial species from cattle, as determined with the rumen simulation technique. *Anaerobe.* 17:232-238.

- Kozelov, L., F. Tliev, J. Profirov, I. Nikolov, G. Ganev, T. Modeva, and M. Krasteva. 2001. The effect of supplementing sheep with Ropadiar on digestibility and fermentation in the rumen. *Zhivotnov Dni. Nuki.* 3:152-154.
- Krause, D., and J. Russell. 1996. An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid fermenting bacteria in ruminal amino acid degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 815-821.
- Lambert, G. 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J. Anim. Sci.* 2009. 87:101–108.
- Lawrence, B., and R. Reynolds. 1984. Progress in essential oils. *Perfumer & flavorist.* 9:23-31.
- Lechtenberg, K., T. Nagaraja, and M. Chengappa. 1988. Antimicrobial susceptibility of *Fusobacterium necrophorum* isolated from bovine hepatic abscesses. *American journal of veterinary research.* 59:44-47.
- Lee, S., H. Hwang, J. Ha, H. Jeong, and J. Kim. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life sciences.* 73:167-179.
- Mader, T. 2003. Environmental stress in confined beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81:110-119.
- Mader, T., J. Dahlquist, and J. Gaughan. 1997. Wind protection effects and airflow patterns in outside feedlots. *J. Anim. Sci.* 75:26-36.
- Mader, T., J. Gaughan, and B. Young. 1999. Feedlot diet roughage level for Hereford cattle exposed to excessive heat load. *Prof. Anim. Sci.* 15:53-62.
- Malecky, M., L. Broudiscou, and P. Schmidely. 2009. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. *Anim. Feed Sci. Tech.* 154:24-35.
- Martins, T., T. Acedo, V. Gouvêa, G. Vasconcellos, M. Arrigoni, C. Martins, D. Millen, M. Pai, A. Perdigão, G. Melo, R. Rizzieri, L. Rosolen, C. Costa, and A. Sartor. 2020. Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on gene expression of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 98:302-303.
- McGuffey, R., L. Richardson, and J. Wilkinson. 2001. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *Journal of Dairy Science.* 84:194-203.

- McIntosh, F., P. Williams, R. Losa, R. Wallace, D. Beever, and C. Newbold. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5011-5014.
- Meyer, N., G. Erickson, T. Klopfenstein, M. Greenquist, M. Luebbe, P. Williams, and M. Engstrom. 2009. Effect of essential oils, tylosin and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation and digestibility. *J. Anim. Sci.* 87:2346-2354.
- Michalak, M., K. Wojnarowski, P. Cholewinska, N. Szeligowska, M. Bawej and J. Pacon. 2021. Selected alternative feed additives used to manipulate the rumen microbiome. *Animals.* 11:1542.
- Miguel, M. 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules.* 15:9252-9287.
- Montgomery, J., M. King, J. Gentry, A. Barham, B. Barham, G. Hilton, J. Blanton, R. Horts, M. Galyean, K. Morrow, D. Wester, and M. F. Miller. 2004. Supplemental vitamin D3 concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. *J. Anim. Sci.* 82:2092-2104.
- Muir, L., and A. Barreto. 1979. Sensitivity of *Streptococcus bovis* to various antibiotics. *J. Anim. Sci.* 48:468-473.
- Nagaraja, T., and M. Chengappa. 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: a review, *Journal of Animal Science.* 76:287-298.
- Nagaraja, T., and M. Taylor. 1987. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1620-1625.
- Nagaraja, T., T. Avery, E. Bartley, S. Roof, and A. Dayton. 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 54:649-658.
- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera, and U. Bernabucci. 2006. Efectos climáticos sobre los caracteres productivos en el ganado. *Vet. Res. Commun.* 30:75-81.
- Negi, P. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety. *Int. J. Food Microbiol.* 156:7-17.
- Nehme, R., S. Andrés, R. Pereira, M. Ben Jemaa, S. Bouhallab, F. Cecilliani, S. López, F. Rahali, R. Ksouri, D. Pereira, and L. Abdennebi-Najar. 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. *Antioxidants.* 10:330.

- Nelson, C., J. Powell, D. Price, M. Hersom, J. Yelich, M. Drewnoski, S. Bird, and G. Bridges. 2016. Assessment of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations of beef cows and calves across seasons and geographical locations. *J. Anim. Sci.* 94:3958-3965.
- Newbold, C., F. McIntosh, P. Williams, R. Losa, R. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114:105-112.
- Nienaber, J., G. Hahn, T. Brown-Brandl, and R. Eigenberg. 2003. Heat stress climatic conditions and the physiological responses of cattle. In fifth international dairy housing conference for 2003. American Society of Agricultural and Biological Engineers. 1:225.
- NRC (National Research Council). 1981. Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals. National Academy Press, Washington, DC.
- Ornaghi, M., R. Passeti, J. Torrecilhas, C. Mottin, A. Vital, A. Guerrero, C. Sañudo, M. Campo, and I. Prado. 2017. Essential oils in the diet of young bulls: Effect on animal performance, digestibility, temperament, feeding behaviour and carcass characteristics. *Animal Feed Science and Technology.* 234:274-283.
- Orzechowski, A., P. Ostaszewski, M. Jank, and S. Berwird. 2002. Bioactive substances of plant origin in food-impact on genomics. *Reproduction Nutrition Development.* 42:461-477.
- Osei, A., S. Chauhan, B. Leury, L. Cheng, B. Cullen, I. Clarke, and F. Dunshea. 2019. Genetic Selection for Thermotolerance in Ruminants. *Animals.* 9:948.
- Ouattara, B., R. Simard, R. Holley, G. Piette, and A. Bégin. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International journal of food microbiology.* 37:155-162.
- Oyen, L., and N. Dung. 1999. *Plant Resources of South-East Asia No. 19: Essential-oil plants.* 1:279.
- Pandey, A., P. Kumar, and M. Saxena. 2019. Feed additives in animal health. In *Nutraceuticals in veterinary medicine.* 1:345-362.



- Peel, D., K. Mathews Jr., and R. Johnson. 2011. Trade, the expanding Mexican beef industry, and feedlot and stocker cattle production in Mexico. US Department of Agriculture, Economic Research Service. Vol. 1443. Disponible en: <http://www.ers.usda.gov/media/118317/ldpm20601>.
- Plascencia, J. A. 2015. Evaluation of feed additives on performance of Ruminants fattening under conditions of high ambient temperatures. XXV Reunión Internacional Sobre Producción de Carne Y Leche En Climas Áridos. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/282507045>.
- Polin, L., A. Muro, and L. Díaz. 2014. Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes. Revisión. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 5:25-47.
- Potter, E., C. Cooley, L. Richardson, A. Rahn, and R. Rathmacher. 1976. Effect of monensin on performance of cattle fed forage. J. Anim. Sci. 43:665-669.
- Prescott, L., J. Harley, and D. Klein. 2004. Control de microorganismos por agentes físicos y químicos. Microbiología; McGraw-Hill-Interamericana de España: Madrid, Spain. 145-162.
- Ravindran, V. 2010. Aditivos en la alimentación animal: presente y futuro. Institute of Food, Nutrition and Human Health. Massey University, Palmerston North. Vol. 4442.
- Reddy, L., B. Odhav, and K. Bhoola. 2003. Natural products for cancer prevention: a global perspective. Pharmacology & therapeutics. 99:1-13.
- Renaudeau, D., A. Collin, S. Yahav, V. de Basilio, J. Gourdine, and R. Collier. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. Animal: an international journal of animal bioscience 6:707-728.
- Richardson, L., A. Raun, E. Potter, C. Cooley, and R. Rathmacher. 1976. Effects of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. J. Anim. Sci. 43:657-664.
- Russell, J. 1987. A Proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminant bacterial growth: Effects on ion flux and protonmotive force. J. Anim. Sci. 64:1519-1525.
- Russell, J., and H. Stroble. 1989. Effect of Ionophores on ruminal fermentation. Applied Environmental Microbiology. 55:1-6.

- Russell, J., and J. Rychlik. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*. 292:1119-1122.
- Sakkas, P. 2023. The Effects of Feed Additives on Farm Animals under Heat Stress Conditions. In: *Sustainable Use of Feed Additives in Livestock: Novel Ways for Animal Production*. 1:285–326.
- Samuelson, K., M. Hubbert, M. Galyean, and C. Löes. 2016. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *Journal of Animal Science*. 94:2648-2663.
- Santos M., P. Robinson, P. Williams, and R. Losa. 2010. Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157:64-71.
- Scanlan, C., and T. Hathcock. 1983. Bovine rumenitis-liver abscess complex: A bacteriological review. *Cornell Vet.* 73:288-297.
- Shojadoost, B., S. Peighambari, and H. Nikpiran. 2013. Effects of virginiamycin against experimentally induced necrotic enteritis in broiler chickens vaccinated or not with an attenuated coccidial vaccine. *J. Appl. Poult. Res.*, 22:160-167.
- Shurson, G. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology*. Vol: 235:60-76.
- Sikkema, J., J. de Bont, and B. Poolman. 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of biological Chemistry*. 269:8022-8028.
- Simitzis, P. 2017. Enrichment of animal diets with essential oils—a great perspective on improving animal performance and quality characteristics of the derived products. *Medicines*. 4:35.
- Singh, L., N. Kaur, and P. Kumar. 2009. Reactive oxygen species (ROS), oxidative damage and antioxidative defence systems with emphasis on herbal antioxidants and human and cattle health cell. *Biochem. Cell. Arch.* 9:135-144.
- Singh, M., S. Chauhan, and P. Kumar. 2008. Effect of supplementation on diets with BMD and virginiamycin on the growth performance, carcass characteristics and bacterial population in broiler chickens. *Vet. World*. 1:141-143.

- Sivropoulou, A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 44:1202-1205.
- Slyter, L. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J Anim Sci*. 43:910-29.
- Slyter, L. 1979. Monensin and dichloracetamide influences on methane and volatile fatty acid production by rumen bacteria in vivo. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:283-288.
- Stevanović, Z., J. Bošnjak, I. Pajić, J. Raj, and M. Vasiljević. 2018. Essential oils as feed additives future perspectives. *Molecules*. 23:1717.
- Stipkovits, L., T. Kobulej, Z. Varga, and S. Juhasz. 1987. In vitro testing of the anti-mycoplasma effect of some anti-coccidial drugs. *Vet. Microbiol.* 15:65-70.
- Thom, E. 1959. The discomfort index. *Weatherwise*. 12:57-59.
- Torre, C., and G. Caja. 1998. Utilización de aditivos en rumiantes: vitaminas y aminoácidos protegidos. *Avances en nutrición y alimentación animal: XIV Curso de especialización*. 1:67-94.
- Torres, R., D. Moura, C. Ghedini, J. Ezequiel, and M. Almeida. 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. *Small Ruminant Research*. 189:106-148.
- Trouillas, P., C. Calliste, D. Allais, A. Simon, A. Marfak, C. Delage, and J. Duroux. 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food chemistry*. 80:399-407.
- Ultee, A., E. Kets, and E. Smid. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*. 65:4606-4610.
- Ultee, A., M. Bennik, and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*. 68:1561-1568.
- Valtorta, S., and M. Gallardo. 2004. Evaporative cooling for Holstein dairy cows under grazing conditions. *Int. J. Biometeorol.* 48:213-217.

- Valtorta, S., M. Gallardo, H. Castro, and M. Castelli. 1996. Artificial shade and supplementation effects on grazing dairy cows in Argentina. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 39:233-236.
- Van Nevel, C., and I. Demeyer. 1977. Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. *Appl. Environ. Microbiol.* 34:251-257.
- Van Nevel, C., D. Demeyer, and H. Henderick. 1984. Effect of virginiamycin on carbohydrate and protein metabolism in the rumen in vitro. *Arch. Tierernahr.* 34:149-55.
- Wang, C., S. Wang, and H. Zhou. 2009. Influences of flavomycin, ropadiar and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation and methane emission from sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.* 148:157-166.
- Watanabe, K., J. Watanabe, S. Kuramitsu, and H. Maruyama. 1981. Comparison of the activity of ionophores with other antibacterial agents against anaerobes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19:519-525.
- Wedegaertner, T., and D. Johnson. 1983. Monensin Effects on Digestibility, Methanogenesis and Heat Increment of a Cracked Corn-Silage Diet Fed to Steers. *Journal of Animal Science.* 57:168–177.
- West, J. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- World Health Organization. 2017. Stop using antibiotics in healthy animals to prevent the spread of antibiotic resistance. World Health Organization Media Center. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance#:~:text=WHO%20is%20recommending%20that%20farmers%20and%20the%20food,medicine%20by%20reducing%20their%20unnecessary%20use%20in%20animals>.
- Yang, C., and J. Russell. 1993a. Effect of monensin on the specific activity of ammonia production by ruminal bacteria and disappearance of amino nitrogen from the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:3250-3254.

- Yang, C., and J. Russell. 1993b. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the number of amino acid-fermenting bacteria. *J. Anim. Sci.* 71:3470-3476.
- Yang, W., B. Ametaj, C. Benchaar, M. He, and K. Beauchemin. 2010. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics and blood metabolites. *J. Anim. Sci.* 88:1082-1092.
- Yang, W., C. Benchaar, B. Ametaj, A. Chaves, M. He, and T. McAllister. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 90:5671-5681.