https://doi.org/10.22319/rmcp.v16i4.6840

Artículo

Impacto de un aditivo a base de hierbas en la fermentación y la microbiota ruminal de corderos

Mario Iván Ávila-Estrada [a*]

Germán David Mendoza-Martínez [b]

Ismael Martínez-Cortés [b]

María Eugenia De la Torre-Hernández [b,c]

Hortencia Hernández-Ruíz [d]

Héctor Aarón Lee-Rangel [e]

Rogelio Flores-Ramírez [e]

Augusto César Lizarazo-Chaparro [f]

[a] Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Doctorado en ciencias agropecuarias. Coyoacán, México City 04960, México.

[b] Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Departamento de Producción Agrícola y Animal. México.

[c] SECIHTI-Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México.

[d] Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Departamento del Hombre y su Ambiente. México.

[e] Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Agronomía y Veterinaria. México.

[f] Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México.

[*] Autor de correspondencia: mvzmarioavila@gmail.com

Recibido: 02/01/2025

Aceptado: 06/08/2025

Resumen:

El uso de fitobióticos ha mostrado cambios benéficos en la producción y la salud animal debido a la presencia de metabolitos secundarios, algunos de los cuales tienen actividad de vitamina C debido a la función antioxidante, importante en rumiantes. Esta investigación evaluó los efectos de un fitobiótico elaborado con *Phyllanthus emblica* y *Ocimum sanctum*, que ha demostrado actividad de vitamina C, sobre la fermentación y la microbiota ruminal. Diez (10) corderos machos Hampshire × Suffolk se alojaron individualmente y se asignaron aleatoriamente a dos grupos: 0 o 15 g / kg de materia seca del aditivo herbal durante 60 días. Se recogieron muestras de líquido ruminal para determinar las concentraciones de ácidos grasos volátiles mediante cromatografía de gases, y el análisis de la microbiota se realizó mediante extracción de ADN y secuenciación de la región V3-V4 del gen ARNr 16S. La diversidad alfa se analizó utilizando los índices de Chao1, Shannon y recíproco de Simpson, mientras que la diversidad beta se evaluó mediante análisis de coordenadas principales. Los datos se analizaron mediante una prueba t de muestras independientes y correlación de Pearson. La suplementación disminuyó la concentración de propionato en un 19.38 % (P= 0.05), con una tendencia a aumentar la proporción acetato: propionato (P= 0.06), lo que resultó en un aumento del 15.18 % en la concentración estimada de metano (P= 0.05), lo que afectó la eficiencia de la fermentación. En cuanto a la microbiota, se observó una disminución del 14.35 % en Firmicutes (P= 0.06) y un incremento del 27.2 % en Bacteroidetes (P= 0.07). Estos resultados sugieren que el fitobiótico modula la microbiota y la fermentación ruminal.

Palabras clave: Corderos, Bacteroidetes, Fitobiótico, *Ocimum sanctum*, *Phyllanthus emblica*.

Introducción

Los rumiantes tienen la capacidad de sintetizar vitamina C en el hígado y los riñones a partir de la glucosa; por lo tanto, no se considera un nutriente esencial; sin embargo, una enfermedad o situación estresante puede reducir los niveles de vitamina C[(1)]; además, los ingredientes comúnmente utilizados para las dietas, como el heno, no contienen grandes cantidades de vitamina C[(2)]; asimismo, las formas actuales de suplementación también se degradan rápidamente en el rumen[(3)]; por ello, se han buscado alternativas para mejorar su

disponibilidad, como algunos fitobióticos que contienen actividad de vitamina C y otros metabolitos secundarios con actividad antioxidante.
Se ha reportado que *Phyllanthus emblica* tiene un alto contenido de ácido ascórbico, mientras que sus principales metabolitos son los ácidos gálico y elágico; no obstante, también contiene polifenoles, taninos y alcaloides[4], algunos de los compuestos tienen actividad antimicrobiana como el eugenol, el timol y el cariofileno[5].

La caracterización de *Ocimum sanctum* reporta que los metabolitos presentes en esta planta son principalmente alcaloides, flavonoides, terpenoides, taninos, saponinas y fenoles como el eugenol[6]; algunos de sus compuestos como el eugenol, el ácido ursólico y el cariofileno han demostrado actividad antimicrobiana[7]; sin embargo, el metabolito principal es el eugenol, que además de ser antibacteriano, también mostró propiedades antifúngicas, antivirales y antioxidantes[8].

Investigaciones anteriores han informado que la adición de *P. emblica* y *O. sanctum*, en combinación con otras plantas en una fermentación de fluido ruminal, mostró un aumento en la producción de acetato y una disminución en propionato y butirato, lo que llevó a un incremento en la proporción acetato:propionato[9]. En otro experimento, la suplementación aumentó la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y butirato, mostrando cambios en la microbiota[10]. La suplementación con un fitobiótico elaborado con *P. emblica* y *O. sanctum* en corderos de engorda mejoró el rendimiento en canal y la capacidad antioxidante de la carne[3], y en otra investigación en ovejas gemelares, la suplementación incrementó el peso corporal de los fetos y sugirió que este tipo de antioxidantes puede ser una buena estrategia nutricional para ovejas reproductoras en condiciones adversas[11]. La suplementación en bovinos lecheros redujo la incidencia de mastitis y mejoró la tasa de preñez[12].

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en la fermentación y la microbioma ruminal en corderos alimentados con un aditivo alimenticio herbal a base de *Ocimum sanctum* y *Phyllanthus emblica*.

Material y métodos

Diseño experimental y dieta

Diez (10) corderos machos Hampshire × Suffolk se alojaron en corrales individuales (1.00 × 1.80 m) y se asignaron a un diseño completamente al azar con dos grupos que consistieron

en la inclusión dietética de un aditivo herbal a 0 o 15 g/kg de materia seca (1.5 %) (C-Power, Nuproxa México, Querétaro, México e Indian Herbs Research & Supply Co. Ltd.) proporcionado durante 60 días (n= 5 corderos / tratamiento) mezclado en una ración basal para corderos de engorda (Cuadro 1). La ingesta de materia seca se ajustó semanalmente de acuerdo con la ingesta del cordero. El aditivo a base de hierbas está elaborado con *Ocimum sanctum* y *Phyllanthus emblica* y contiene un 12 % de taninos hidrolizables y un 5.1 % de ácido gálico cuantificado por HPTLC en laboratorios certificados[3] y 20 compuestos con propiedades nutracéuticas como tolueno, timol, fenol, gamma-sitosterol y otros alcoholes, aldehídos y fenoles[13].

Cuadro 1: Composición de la ración basal de corderos de engorda

Ingredientes	**%**
Grano de sorgo	54.44
Harina de soya	19.09
Heno de alfalfa	10.00
Heno de avena	10.00
Melaza de caña	5.00
Premezcla mineral	1.00
Cloruro de sodio	0.30
Carbonato de calcio	0.17
Composición química	**%**
Materia seca	88.65
Extracto etéreo	2.52
Proteína cruda	17.4
Ceniza	6.31
Fibra detergente neutro	41.1
Fibra detergente ácido	25.9

Muestras de líquido ruminal

Después de 60 días de alimentación, el peso corporal promedio de todos los animales fue de 45.77 ± 3.38 kg y se obtuvieron muestras de líquido ruminal mediante una sonda esofágica en estado preprandial, las cuales se filtraron a través de ocho capas de gasa; esto se separó en dos muestras, la primera se separó en alícuotas de 1 ml, las cuales se colocaron inmediatamente sobre hielo seco y se almacenaron en ultracongelación (-80 °C) hasta su análisis; para la segunda, se utilizaron 50 ml de líquido ruminal para medir el pH inmediatamente con un medidor de pH (Hanna Hi 2002-02, Rhode Island, EE. UU.) para luego acidificarlo con ácido metafosfórico y congelarlo hasta el análisis de AGV.

Análisis de AGV

Los AGV se determinaron por cromatografía de gases utilizando un GC Clarus 580 (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE. UU.) con una columna HP-FFAP de 30 m x 0.25 mm, 0.25 µm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.), siguiendo los protocolos descritos por Erwin *et al*[14] y modificados por Miranda *et al*[15]. Las proporciones molares se calcularon dividiendo la concentración molar de cada AGV individual entre la concentración total de AGV, y el resultado se multiplicó por 100 para expresarlo como un porcentaje. Para estimar la producción de metano y dióxido de carbono, se aplicaron las ecuaciones estequiométricas propuestas por Wolin[16] y simplificadas por Van Soest[17]. Se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$CO2 = (Acetato \div 2) + (Propionato \div 4) + (1.5 \times Butirato)$$
$$CH4 = Acetato + (2 \times butirato) - CO2$$

La eficiencia de la fermentación ruminal también se estimó de acuerdo con la metodología descrita anteriormente[18].

Análisis metagenómico

Se tomaron alícuotas (250 µl) de cada muestra y se realizó la extracción de ADN metagenómico con el kit ZymoBIOMICS® (Cat. No. D4300; Irvine, CA, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación y la calidad del ADN obtenido del proceso de extracción se evaluaron con un NanoDrop 1000® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.); se obtuvieron concentraciones de ADN metagenómico entre 78.2 ng/µl y 129.8 ng/µl y se enviaron 15 µl de cada muestra a ZymoBiomics® (Zymo Research, Irvine, CA, EE.UU.) para ser procesadas y analizadas por el servicio de secuenciación dirigida de V3-V4 de ARNr 16S para el análisis del microbioma.

El gen bacteriano ARNr 16S se secuenció utilizando el kit de preparación de bibliotecas NGS Quick-16S™ (Zymo Research, Irvine, CA, EE.UU.). La región V3-V4 de este gen se amplificó con primers específicos diseñados a medida por Zymo Research. La biblioteca agrupada final se limpió con el kit Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™ (Zymo Research, Irvine, CA, EE.UU.), luego se cuantificó con TapeStation® (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.) y Qubit® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Como control positivo para cada preparación dirigida de biblioteca, se utilizó el estándar de ADN de la comunidad microbiana ZymoBIOMICS® (Zymo Research, Irvine, CA, EE.UU.).

Se incluyeron controles negativos (es decir, blanco de control de extracción y blanco de control de preparación de biblioteca) para evaluar el nivel de carga biológica inherente al proceso de extracción. La biblioteca final se secuenció en la plataforma Illumina® MiSeq™ con un kit de reactivos v3 (600 ciclos). La secuenciación se realizó con un pico de PhiX del 10 %. Se infirieron variantes únicas de secuencias de amplicones a partir de lecturas sin procesar utilizando la escisión de DADA2[19], que también sirvió para eliminar secuencias quiméricas. La asignación de taxonomía se llevó a cabo utilizando Uclust de Qiime v.1.9.1[20] con la base de datos propia de Zymo.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un diseño completamente al azar con dos grupos (0 o 15 g/kg de materia seca del aditivo herbal). La diversidad alfa y la riqueza microbiana se analizaron utilizando los índices de Chao1, Shannon y recíproco de Simpson. Además, también se evaluó la correlación de Pearson. Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante una prueba t de muestras independientes, considerando $P<0.05$ como estadísticamente significativo. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software de análisis estadístico SAS OnDemand para Académicos[21].

Para la diversidad beta, se generó un gráfico tridimensional de análisis de coordenadas principales (PCoA, por sus siglas en inglés)[22] utilizando la matriz de distancia por pares entre muestras calculada por la disimilitud de Bray-Curtis utilizando variantes únicas de secuencia de amplicones (ASV, por sus siglas en inglés)[23]. La composición alfa y los análisis de visualización de diversidad beta también se realizaron con QIIME v.1.9.1.

Resultados

Microbiota ruminal y patrón de fermentación

La suplementación con el aditivo herbal disminuyó la concentración de propionato ($P= 0.05$), mostró una tendencia a aumentar la relación acetato:propionato ($P= 0.06$) y se detectó una correlación negativa entre la concentración de acetato y propionato (r= -0.774, $P<0.01$); en cuanto a la abundancia relativa de filos, Firmicutes disminuyó y Bacteroidetes mostró una tendencia a aumentar ($P= 0.07$); además, se detectó una correlación negativa entre ambos filos (r= -0904, $P<0.001$). La concentración molar estimada de metano se incrementó ($P=$

0.05). Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los AGV totales, la suplementación resultó en un aumento del 14.6 % (Cuadro 2).

Cuadro 2: Efecto del aditivo herbal sobre la fermentación ruminal y la concentración de AGV en corderos

	C-Powder® (g/kg MS)		**EEM**	**CV (%)**	***P*-valor**
	0	**15**			
Ingesta de MS, kg/día	1.599	1.592	0.066	9.66	0.94
AGV totales, mM	67.71	82.31	6.477	27.31	0.28
pH	6.81	6.84	0.074	3.41	0.81
Acetato, %	56.47	61.70	1.668	8.93	0.12
Propionato, %	30.13	24.59	1.477	17.07	0.05
Butirato, %	13.38	13.70	1. 072	25.02	0.89
Proporción acetato:propionato	1.93:1	2.54:1	0.168	23.73	0.06
CO_2, % molar	55.85	57.56	1.193	6.65	0.51
CH_4, % molar	27.40	31.56	1.108	11.88	0.05
Eficiencia de fermentación	84.81	82.48	0.622	2.35	0.05

MS= materia seca; EEM= error estándar de la media; CV= coeficiente de variación; AGV= ácidos grasos volátiles.

A nivel de filo, la suplementación aditiva tendió a aumentar la abundancia relativa de Bacteroidetes y reducir la abundancia de Firmicutes ($P<0.10$) en comparación con el control, también tendió a reducir la abundancia de Corynebacteriaceae ($P= 0.06$) y reduce Lachnospiraceae, Rikenellaceae, Defluviitaleaceae y Eubacteriaceae ($P\leq0.05$) en comparación con los corderos no suplementados (Cuadro 3). Se detectaron algunas familias bacterianas con la suplementación aditiva (Staphylococcaceae, Carnobacteriaceae, Rhodospirillaceae y Anaeroplasmataceae), y aunque no hay diferencias estadísticas, se debe considerar su presencia biológica.

Cuadro 3: Efecto del aditivo herbal sobre la proporción Firmicutes:Bacteroidetes y la abundancia relativa de los principales filos y familias de la microbiota ruminal

	C-Powder® (g/kg MS)		**EEM**	**CV (%)**	***P*-valor**
	0	**15**			
Bacteroidetes	25.00	31.80	1.890	21.04	0.07
Firmicutes	62.16	53.24	2.454	13.45	0.06
Relación Firmicutes:Bacteroidetes	2.66:1	1.70:1	0.263	38.15	0.06
Lachnospiraceae	32.91	23.70	2.303	26.59	0.03
Prevotellaceae	23.70	27.62	1.521	19.80	0.21
Veillonellaceae	12.30	12.80	1.647	43.61	0.88
Ruminococcaceae	9.41	10.66	0.907	30.14	0.52
Succinivibrionaceae	5.98	5.18	1.116	65.89	0.74
Methanobacteriaceae	2.21	5.08	0.964	90.95	0.14
Bifidobacteriaceae	0.31	0.40	0.049	46.11	0.42
Corynebacteriaceae	3.0	1.96	0.285	37.45	0.06
Bacteroidaceae	1.35	2.72	0.458	77.14	0.14
Rikenellaceae	0.53	1.58	0.211	72.68	0.01
Anaerolineaceae	0.0	0.02	0.009	331.66	0.29
Fibrobacteraceae	0.13	0.24	0.046	84.55	0.27
Staphylococcaceae	0.0	0.04	0.021	222.48	0.10
Carnobacteriaceae	0.0	0.02	0.009	331.66	0.29
Christensenellaceae	0.63	1.66	0.345	104.20	0.14
Defluviitaleaceae	0.15	0.06	0.021	64.22	0.02
Eubacteriaceae	0.21	0.10	0.030	62.75	0.05
Familia XIII	1.53	1.24	0.121	28.74	0.24
Otros Clostridiales	0.05	0.02	0.027	254.21	0.61
Erysipelotrichaceae	3.30	2.00	0.722	88.48	0.39
Acidaminococcaceae	0.86	0.94	0.175	64.78	0.84
Synergistaceae	0.05	0.56	0.214	252.81	0.25
Spirochaetaceae	0.03	0.24	0.038	99.94	0.34
Desulfovibrionaceae	0.15	0.14	0.015	35.90	0.76
Rhodospirillaceae	0.00	0.02	0.009	331.66	0.29
Anaeroplasmataceae	0.00	0.02	0.009	331.66	0.29
Cardiobacteriaceae	0.01	0.00	0.009	331.66	0.38
Saccharibacteria	0.24	0.13	0.053	97.82	0.34
Otro	0.90	0.88	0.133	49.80	0.94

MS= materia seca; EEM= error estándar de la media; CV= coeficiente de variación.

Estructura y composición de la microbiota ruminal

Se obtuvieron un total de 465,134 secuencias sin procesar de la región V3-V4 del análisis del gen ARNr 16S, dentro de un rango de 42,050 a 51,082 (promedio de 46,513 por muestra). Después del análisis de control de calidad, así como de la detección y eliminación de quimeras (194,402 secuencias), el total de secuencias analizadas fue de 189,576, en un rango de 16,788 a 21,472 (promedio de 18,958 por muestra). Las comunidades microbianas del rumen de corderos alimentados con el aditivo mostraron valores similares en los índices de riqueza (Chao1), homogeneidad (Shannon) y diversidad (recíproco de Simpson) (Cuadro 4) sin diferencias entre tratamientos (P>0.05).

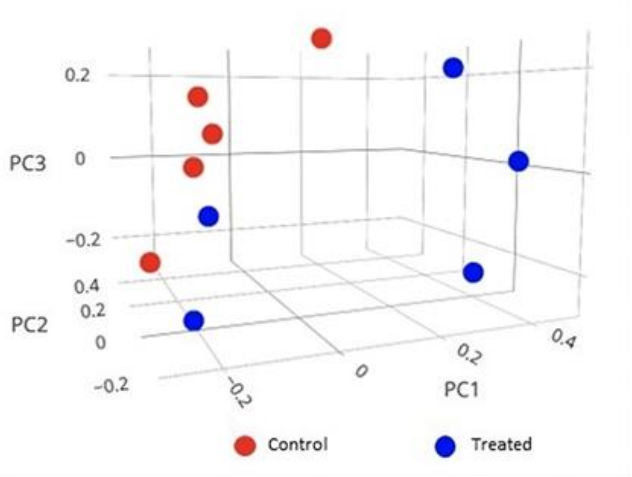
Cuadro 4: Efecto de la adición del aditivo herbal sobre la diversidad microbiana ruminal en corderos

Estimador/Índices	**C-Powder® (g/kg MS)**		**EEM**	**CV (%)**	***P*-valor**
	0	**15**			
Chao1	211.80	267.00	20.71	27.35	0.20
Shannon	6.66	6.95	0.15	6.85	0.35
Recíproco de Simpson	55.45	68.84	7.84	39.92	0.43

MS= materia seca; EEM= error estándar de la media; CV= coeficiente de variación.

La diversidad beta es una medida de las diferencias en la diversidad microbiana entre muestras. Los perfiles de composición de las muestras mostraron diferencias entre los animales control y los alimentados con el aditivo herbal, ya que perfiles similares de muestras de control están más cerca entre sí en la gráfica. Las muestras de animales tratados, aunque dispersas entre sí, forman un grupo diferente al del control, lo que sugiere que el aditivo tiene un efecto de modelado sobre la microbiota ruminal de los corderos suplementados (Figura 1).

Figura 1: Análisis de la diversidad beta de las comunidades microbianas ruminales en corderos no suplementados (puntos rojos) y corderos suplementados con el aditivo herbal (puntos azules)



Discusión

Según los resultados obtenidos del análisis de la microbiota mediante la secuenciación de la región V3-V4, no se observaron cambios significativos en los índices de diversidad alfa, lo que sugiere que la suplementación no alteró la riqueza, homogeneidad o diversidad microbiana. En cuanto a la diversidad beta, el gráfico de PCoA mostró una dispersión de puntos y muestras del grupo suplementado; aunque separados entre sí, formaron un grupo distinto del grupo de control; esto indica que la suplementación causó cambios sutiles en la composición de la comunidad microbiana. Estas modificaciones se reflejaron en la abundancia relativa de ciertos filos y familias, lo que influyó en los patrones de fermentación observados. Esto es similar a otras investigaciones en las que no se observaron cambios en la diversidad alfa; no obstante, en el PCoA, los puntos formaron dos grupos diferentes, sugiriendo alteraciones en la diversidad bacteriana ruminal[24].

Los filos Bacteroidetes y Firmicutes son los principales mediadores en la generación de hidrólisis y producción de AGV, y la proporción de estos afecta el patrón de fermentación y el metabolismo de los rumiantes[25,26,27]. La suplementación con aditivos herbales redujo la abundancia del filo Firmicutes, que incluye bacterias grampositivas responsables de la descomposición de péptidos y aminoácidos exógenos[28]. Investigaciones previas en bovinos mostraron que este filo aumenta cuando hay altas cantidades de concentrado en la dieta[29]. Por otro lado, el filo Bacteroidetes es más eficiente en la descomposición de celulosa, hemicelulosa y pectinas debido a las enzimas glucósido hidrolasa y polisacárido liasa[28]; por lo tanto, este filo ha disminuido en dietas altas en granos[30], en contraste con una mayor

proporción con dietas ricas en forraje[29]. En este ensayo, la relación Firmicutes:Bacteroidetes disminuyó, lo que podría indicar que la fermentación ruminal se vio favorecida para la digestión de las paredes celulares.

Algunas familias del filo Firmicutes disminuyeron, como Lachnospiraceae, Defluviitaleaceae y Eubacteriaceae. Las bacterias de la familia Lachnospiraceae tienen la capacidad de producir la enzima celobiosa fosforilasa[31]. Dentro del filo Bacteroidetes, hay reportes de que la familia Prevotellaceae juega un papel importante en la utilización de polisacáridos de plantas, como hemicelulosa, xilanos, pectinas y almidón, para generar carboxilatos y posteriormente formar AGV; también tiene la capacidad de aumentar su población en ambientes ácidos[32,33]. Investigaciones anteriores mencionan que esta familia es la más abundante cuando la dieta es alta en fibra y se asocia con un incremento en la producción de AGV totales y acetato[29,34]. En este estudio, la familia Prevotellaceae fue mayor por la suplementación con fitobióticos, lo que podría indicar que la suplementación favorece la microbiota para mejorar la digestión de las paredes celulares. Otras familias de este filo tienen la capacidad de fermentar diferentes tipos de carbohidratos y formar ácido succínico, acético y fórmico[25,35]. Entre los cambios observados estuvo la reducción de la familia Corynebacteriaceae, que contiene algunas bacterias que participan en la incidencia de infecciones oportunistas[36] debido a metabolitos secundarios presentes en el fitobiótico.

La disminución de la concentración de propionato, junto con la tendencia hacia un aumento de la proporción acetato:propionato, sugiere un cambio en la fermentación que favorece la concentración de acetato. Este cambio es consistente con el incremento observado en la familia Rikenellaceae, que se asocia negativamente con la producción de propionato[33,34,37]. Esto podría explicar la disminución observada en la concentración de propionato en corderos suplementados; en este sentido, la correlación negativa entre propionato y acetato indica una mayor concentración de acetato, lo que puede resultar en una mayor disponibilidad de carbono e hidrógeno para la síntesis de metano. La formación de acetato libera hidrógeno, que es un sustrato clave para la metanogénesis, mientras que la formación de propionato consume hidrógeno[29]. Por lo tanto, este patrón de fermentación podría estar asociado con un aumento potencial en la síntesis de metano. A pesar de que no se observaron diferencias significativas en la abundancia de arqueas metanógenas, la concentración estimada de metano se incrementó, lo que junto con la disminución del propionato y el cambio en la relación acetato:propionato indican un posible aumento en la producción de hidrógeno, provocando una disminución en la eficiencia de fermentación[37].

Algunos investigadores informan que el uso de algunos fitobióticos ayuda a reducir la producción de metano[38]; esto no debe generalizarse sobre su acción a nivel ruminal. Este estudio muestra que los efectos causados por estos productos no siempre son favorables. Por otro lado, hay informes que muestran que algunos compuestos secundarios disminuyen la metanogénesis ruminal; sin embargo, el efecto no puede atribuirse solo al efecto directo sobre

la metanogénesis, sino también sobre los protozoos y el incremento de la producción de acetato[39].

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la concentración de AGV totales, se debe considerar el aumento numérico observado, ya que los AGV son la principal fuente de energía para los rumiantes. Un incremento en su concentración podría reducir el pH ruminal, favoreciendo la protonación de AGV y facilitando su absorción pasiva a través del epitelio ruminal, lo que podría tener un impacto positivo en la disponibilidad de energía[40,41].

La evaluación de estos aditivos requiere más investigación para poder observar los efectos que la suplementación puede tener en los animales y no solo en la fermentación ruminal, debido a que la suplementación con otros aditivos herbales ha mostrado efectos positivos en la producción animal; en terneras lecheras, a través de un análisis de expresión génica, se detectó una mejora en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas, además de una mejora en la respuesta inmune[42].

Conclusiones e implicaciones

La inclusión dietética de un aditivo herbal elaborado con *Ocimum sanctum* y *Phyllanthus emblica* a 15 g/kg de materia seca en corderos modificó la microbiota ruminal al aumentar las bacterias del filo Bacteroidetes. Adicionalmente, se observó un incremento en la familia bacteriana Rikenellaceae, lo que se asocia con una disminución en la producción de propionato; esto puede estar relacionado con la menor concentración de propionato en los corderos suplementados. Por otro lado, la disminución del propionato puede favorecer la producción de metano, lo que llevó a un aumento en la concentración estimada de metano en corderos suplementados, afectando la eficiencia de la fermentación.

Agradecimientos y conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses y agradecen el apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), anteriormente Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a través del Programa de Becas (CVU: 859789) y el Laboratorio de Ecología de la UAM-Xochimilco.

Literatura citada:

1. Akinmoladun OF. Stress amelioration potential of vitamin C in ruminants: a review. Trop Anim Health Prod 2022;54(1):24.

2. Escobar-Ramírez F, Espinoza-Ochoa T, Hinojosa-Benavides RA, De la Cruz-Marcos RN. Sustitución parcial y total de alfalfa fresca por heno en la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus*) en crecimiento y engorde: una alternativa para la época de estiaje. J Selva Andina Anim Sci 2023;10(1):16-29.

3. Lozano-Sánchez M, Mendoza-Martínez GD, Martínez-García JA, Torre-Hernández ME, Chamorro-Ramírez FH, Martínez-Aispuro JA, *et al*. Evaluation of polyherbal with vitamin C activity on lamb performance and meat characteristics. Rev Bras Zootec 2021;50:e20200166.

4. Jhaumeer Laulloo S, Bhowon MG, Chua LS, Gaungoo H. Phytochemical screening and antioxidant properties of *Phyllanthus emblica* from mauritius. Chem Nat Compd 2018; 4(1):50-55.

5. Begum MA, Hossain R, Jain D, Murti Y, Agrawal KK, Janmeda P, *et al*. Recent insights into the antimicrobial properties of *Phyllanthus emblica* L.: a comprehensive review of wonder berry. Chem Biodivers 2024;21(9):e202400747.

6. Borah R, Biswas SP. Tulsi (*Ocimum sanctum*), excellent source of phytochemicals. Int J Environ Agric Biotechnol 2018;3(5):1732-1738.

7. Panchal P, Parvez N. Phytochemical analysis of medicinal herb (*Ocimum sanctum*). Int J Nanomater Nanotechnol Nanomed 2019;5(2):008-011.

8. Nisar MF, Khadim M, Rafiq M, Chen J, Yang Y, Wan CC. Pharmacological properties and health benefits of eugenol: a comprehensive review. Oxid Med Cell Longev 2021;2021:2497354.

9. Chaturvedi I, Dutta TK, Singh PK, Sharma A. Effect of combined herbal feed additives on methane, total gas production and rumen fermentation. Bioinformation 2015;11(5):261-266.

10. Chaturvedi I, Dutta TK, Singh PK, Chatterjee A, Mandal DK, Bhakat C, Mohammad A, Das AK. Effect of supplementation of phytogenic feed additives on intake, *in vitro* fermentation, growth performance and carcass traits in weaned Barbari kids reared under intensive feeding. Trop Anim Health Prod 2022;54(2):150.

11. Parraguez VH, Sales F, Peralta OA, De Los Reyes M, Campos A, González J, Peralta W, Cabezón C, González-Bulnes A. Maternal supplementation with herbal antioxidants during pregnancy in swine. Antioxidants 2021;10(5):658.

12. Mendoza-Martinez GD, Ortega-Alvarez NI, Hernández-García PA, Espinosa-Ayala E, Díaz-Galván C, Frutis-Moto K, *et al*. Impact of a plant feed additive containing vitamin C on Holstein cow's performance under heat stress conditions. Emir J Food Agric 2022;34(3):248-259.

13. Villanueva M, Espinosa-Reyes G, Flores-Ramirez R, Rojas-Velazquez AN, López JCG, Vazquez-Valladolid A, *et al*. Herbal vitamin C prevents DNA oxidation and modifies the metabolomic water profile of tilapia (*Oreochromis* spp.). Life 2022;12:1243.

14. Erwin ES, Marco GJ, Emery EM. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. J Dairy Sci 1961;44(9):1768-1771.

15. Miranda LA, Lee-Rangel HA, Mendoza-Martínez GD, Crosby-Galván MM, Relling AE, Pinos-Rodríguez JM, *et al*. Influence of calcium propionate on *in vitro* fermentation of sorghum-based diets. Rev Fac Cienc Agrar 2017;49(1):185-192.

16. Wolin MJ. A theoretical rumen fermentation balance. J Dairy Sci 1960;43(10):1452-1459.

17. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press; 1994.

18. Mendoza MGD, Hernandez-Garcia PA, Plata PFX. Nutrición animal cuantitativa. Primera ed. Ciudad de México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2022.

19. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat Methods 2016;13(7):581-583.

20. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, *et al*. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat Methods 2010;7(5):335-336.

21. SAS Institute. Statistical Analysis System (SAS On Demand for Academics). 2021.

22. Vázquez-Baeza Y, Pirrung M, González A, Knight R. EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. GigaScience 2013;2(1):16.

23. Bray JR, Curtis JT. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecol Monogr 1957;27(4):325-349.

24. Wang L, Wu D, Yan T, Wang L. The impact of rumen cannulation on the microbial community of goat rumens as measured using 16S rRNA high-throughput sequencing. J Anim Physiol Anim Nutr 2018;102(1):175-183.

25. Jami E, White BA, Mizrahi I. Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. PLoS ONE 2014;9(1):e85423.

26. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 2006;444:1027-1031.

27. Yang Y, Wang M, Yan S, Yong X, Zhang X, Awathi MK, Xi Y, Zhou J. Effects of hydrochar and biogas slurry reflux on methane production by mixed anaerobic digestion of cow manure and corn straw. Chemosphere 2023;310:136876.

28. Cholewińska P, Wołoszyńska M, Michalak M, Czyż K, Rant W, Smoliński J, Wyrostek A, Wojnarowski K. Influence of selected factors on the Firmicutes, Bacteroidetes phyla and the Lactobacillaceae family in the digestive tract of sheep. Sci Rep 2021;11(1):23801.

29. Wang R, He S, Huang D, Wu D, Peng H, He S, *et al*. The response of rumen pH, fermentation parameters and rumen bacteria to feeds of different concentrate to roughage ratios in buffalos. Front Microbiomes 2022;1:1053794.

30. Chen H, Wang C, Huasai S, Chen A. Effects of dietary forage to concentrate ratio on nutrient digestibility, ruminal fermentation and rumen bacterial composition in Angus cows. Sci Rep 2021;11(1):17023.

31. Ricci S, Pacífico C, Castillo-Lopez E, Rivera-Chacon R, Schwartz-Zimmermann HE, Reisinger N, Berthiller F, Zebeli Q, Petri RM. Progressive microbial adaptation of the bovine rumen and hindgut in response to a step-wise increase in dietary starch and the influence of phytogenic supplementation. Front Microbiol 2022;13:920427.

32. Liang J, Zheng W, Zhang H, Zhang P, Cai Y, Wang Q, Zhou Z, Ding Y. Transformation of bacterial community structure in rumen liquid anaerobic digestion of rice straw. Environ Pollut 2021;269:116130.

33. Zened A, Combes S, Cauquil L, Mariette J, Klopp C, Bouchez O, Troegeler-Meynadier A, Enjalbert F. Microbial ecology of the rumen evaluated by 454 GS FLX pyrosequencing is affected by starch and oil supplementation of diets. FEMS Microbiol Ecol 2013;83(2):504-514.

34. Zhu X, Liu B, Xiao J, Guo M, Zhao S, Hu M, Cui Y, Li D, Wang C, Ma S, Shi Y. Effects of different roughage diets on fattening performance, meat quality, fatty acid composition, and rumen microbe in steers. Front Nutr 2022;9:885069.

35. Flint HJ, Bayer EA, Rincon MT, Lamed R, White BA. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. Nat Rev Microbiol 2008;6(2):121-131.

36. Zhi XY, Jiang Z, Yang LL, Huang Y. The underlying mechanisms of genetic innovation and speciation in the family Corynebacteriaceae: A phylogenomics approach. Mol Phylogenet Evol 2017;107:246-255.

37. Xia G, Sun J, Fan Y, Zhao F, Ahmed G, Jin Y, Zhang Y, Wang H. β-Sitosterol attenuates high grain diet-induced inflammatory stress and modifies rumen fermentation and microbiota in sheep. Animals 2020;10(1):171.

38. Alayón-Gamboa JA, Albores-Moreno S, Jiménez-Ferrer G, Alarcón-Zúñiga B, Miranda-Romero LA, Pérez-Luna EJ, Canul-Solís J. Tropical tree foliage supplementation in ruminants improves rumen fermentation and the bacterial profile and decreases methane production. Anim Biotechnol 2023;34(9):4510-4522.

39. Ugbogu EA, Elghandour MMMY, Ikpeazu VO, Buendía GR, Molina OM, Arunsi UO, Emmanuel O, Salem AZM. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. J Clean Prod 2019;213(10):915-925.

40. Yohe TT, Schramm H, White RR, Hanigan MD, Parsons CLM, Tucker HLM, Enger BD, Hardy NR, Daniels KM. Form of calf diet and the rumen. II: Impact on volatile fatty acid absorption. J Dairy Sci 2019;102(9):8502-8512.

41. Millen DD, Pacheco RDL, Da Silva Cabral L, Cursino LL, Watanabe DHM, Rigueiro ALN. Ruminal acidosis. In Millen DD, *et al*, editors. Rumenology. Switzerland: Springer International Publishing; 2016:127-156.

42. Díaz-Galván C, Méndez-Olvera ET, Martínez-Gómez D, Gloria-Trujillo A, Hernández-García PA, Espinosa-Ayala E, *et al*. Influence of a polyherbal mixture in dairy calves: growth performance and gene expression. Front Vet Sci 2021;7:623710.