



# Efectos del uso de fitonutrientes en la dieta de rumiantes lecheros: Revisión sistemática

Karoline W Leal<sup>1\*</sup> , Eliana B Parmeggiani<sup>1</sup> , Claudia M Rodrigues<sup>1</sup> , Marta L R Leal<sup>1</sup> .

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Faculdade de Medicina Veterinária. Departamento de Clínica de Grandes Animais, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

\*Correspondencia: [karolwagnerleal@gmail.com](mailto:karolwagnerleal@gmail.com)

Recibido: Marzo 2024; Aceptado: Junio 2024; Publicado: Julio 2024.

## RESUMEN

**Objetivo.** Esta revisión sistemática examina los efectos de los aceites esenciales utilizados como fitonutrientes en la dieta de los animales lecheros, considerando parámetros como el consumo de alimentos, la digestibilidad aparente total, las emisiones de metano y la producción de leche, basándose en estudios publicados entre 2018 y 2023. **Material y métodos.** La búsqueda bibliográfica electrónica resultó en una cuidadosa selección de artículos, que fueron revisados y tabulados para su evaluación. **Resultados.** Los resultados muestran que el 51.35% de los artículos no reportaron efectos significativos de los fitonutrientes en la producción de leche. Sin embargo, el 66.67% de los estudios observaron un aumento en la eficiencia alimenticia y el 50% reportó la presencia de efectos en la digestibilidad aparente. Además, se observó una reducción en las emisiones de metano en los animales tratados con fitonutrientes. **Conclusiones.** Compartir estos resultados con los profesionales de la ganadería lechera puede promover prácticas más sostenibles y efectivas, así como apoyar futuras investigaciones e innovaciones en la nutrición animal, con el objetivo de lograr tanto la eficiencia productiva como la sostenibilidad ambiental.

**Palabras clave:** Aceites esenciales; nutracéuticos; rumiantes; leche (*Fuente: DeSC*).

## ABSTRACT

**Objective.** This systematic review examines the effects of essential oils used as phytonutrients in the diet of dairy animals, considering parameters such as feed consumption, total apparent digestibility, methane emissions and milk production, based on studies published between 2018 and 2023. **Material and methods.** Bibliographic research electronic method resulted in a careful selection of articles, which were reviewed and tabulated for evaluation. **Results.** The results show that 51.35% of the articles did not report significant effects of phytonutrients on milk production. However, 66.67% of the studies observed an increase in feed efficiency and 50% reported the presence of effects on apparent digestibility. Furthermore, there was a reduction in methane emissions in animals treated

### Como citar (Vancouver).

Leal KW, Parmeggiani EB, Rodrigues CM, Leal MLR. Efectos del uso de fitonutrientes en la dieta de rumiantes lecheros: Revisión sistemática. Rev MVZ Córdoba. 2024; 29(3):e3545. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3545>



©El (los) autor (es) 2024. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

with phytonutrients. **Conclusions.** Sharing these results with dairy farming professionals can promote more sustainable and effective practices, as well as support future research and innovations in animal nutrition, aiming for both productive efficiency and environmental sustainability.

**Keywords:** Essential oils; nutraceuticals; ruminants; milk (*Source: DeSC*).

## INTRODUCCIÓN

La ganadería lechera enfrenta numerosos desafíos globales a medida que la demanda de leche continúa creciendo. Por lo tanto, la cadena productiva de la leche está en constante evolución, y se han producido varios cambios que han resultado en adaptaciones y reajustes ambientales, estructurales y organizativos en el sector (1). El adecuado manejo nutricional promueve la salud y el bienestar animal, por ello, se buscan nuevas tecnologías de conservación de alimentos y la selección precisa de ingredientes dietéticos para brindar una adecuada satisfacción a las necesidades nutricionales y la eficiencia productiva (2).

La inclusión de aditivos en la nutrición de rumiantes es una medida estratégica para mejorar la salud animal, promover el uso eficiente de los nutrientes por parte de los microorganismos ruminales y minimizar la pérdida de energía y proteína durante la fermentación (3). Sin embargo, el uso indiscriminado de antimicrobianos y antiparasitarios puede suponer riesgos para la salud de los consumidores por la posible existencia de residuos en los productos de origen animal y, en consecuencia, la transferencia de resistencia a los antibióticos de los animales para los humanos (4). Además, existe una creciente preocupación por los impactos ambientales, que incluyen las emisiones de gases contaminantes como el metano (CH<sub>4</sub>).

Desde enero de 2006, la Unión Europea ha prohibido el uso de ionóforos en la alimentación animal en virtud del Reglamento 1831/2003/CEE. Desde esta perspectiva, se impulsan estudios con compuestos bioactivos, secundarios a las plantas, para evaluar sus efectos ante los desafíos que enfrentan los animales durante el período productivo, verificar el potencial de acción y sinergismo entre la microbiota ruminal, el animal y el aditivo probado, observar la posibilidad de efectos secundarios dosis-dependientes y señalar las restricciones relacionadas con la especie, categoría animal y manejo en general (3).

Los extractos de diversas plantas han generado beneficios en la ganadería, ya que contienen

propiedades antimicrobianas, antiparasitarias, antifúngicas y antioxidantes, que pueden ser utilizadas como aditivos en los alimentos, además de estimular la inmunidad del animal a nivel de receptores en el intestino delgado (5,6). Es necesario desarrollar sistemas de producción animal más eficientes y seguros, ya que las informaciones disponibles en la literatura generalmente involucran estudios *in vitro* o *in vivo* a corto plazo sin registros continuos de los datos de producción.

Además, el uso de aditivos a base de aceites esenciales para rumiantes debe tener en cuenta que el ecosistema microbiano del rumen puede adaptarse y revertir el efecto de la inclusión a corto plazo. Esta revisión sistemática reunió una base de datos de los últimos seis años (2018-2023) para describir los resultados obtenidos de estos estudios en una muestra poblacional más amplia. El objetivo fue verificar si la adición de fitonutrientes derivados de aceites esenciales en la dieta del ganado lechero tenía efectos significativos en el consumo de alimentos, la digestibilidad aparente, las emisiones de metano (CH<sub>4</sub>), la eficiencia alimenticia y en la producción y composición de la leche.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Revisión de la literatura y descripción del estudio.** Para llevar a cabo esta revisión sistemática descriptiva, los estudios se seleccionaron siguiendo las directrices *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Resumidamente, se utilizó el Portal de Revistas CAPES (Brasil) para buscar literatura electrónica, incluidas las bases de datos SCOPUS Elsevier y Web of Science, desde octubre de 2022 hasta enero de 2023.

La búsqueda se realizó combinando términos de búsqueda, palabras clave, con operadores booleanos, que son símbolos utilizados para indicarle al sistema de búsqueda cómo combinar los términos de búsqueda. Se utilizaron los siguientes criterios: a) términos relacionados con la especie o grupo de animales; b) términos relacionados con la característica evaluada; y

c) términos relacionados con el componente alimentario evaluado (Tabla 1). Los operadores booleanos utilizados fueron OR y AND.

**Tabla 1.** Combinación de términos de búsqueda.

Términos relacionados con la especie o grupo de animales.	Términos relacionados con la característica evaluada	Términos relacionados con el componente alimentario evaluado
Rumiantes	Producción de leche	Aceites esenciales
Vacas lecheras	Desempeño productivo	Fitonutrientes
Ganado lechero	Emisión de metano	Compuestos bioactivos
		Nutraceuticos
	Fermentación ruminal	Compuestos vegetales

La combinación de palabras clave y operadores booleanos utilizada en la búsqueda fue: vaca O rumiantes Y "producción de leche" O "eficiencia alimentaria" Y "aceites esenciales" O fitonutrientes, seleccionando artículos publicados entre 2018 y 2023. El primer paso en la selección de artículos científicos fue verificar la presencia de al menos una palabra clave de cada criterio de búsqueda en el título, resumen o palabras clave del artículo. Inicialmente, no hubo restricciones para las revistas revisadas por pares y las publicaciones elegibles incluían resúmenes, actas de congresos, tesis y artículos.

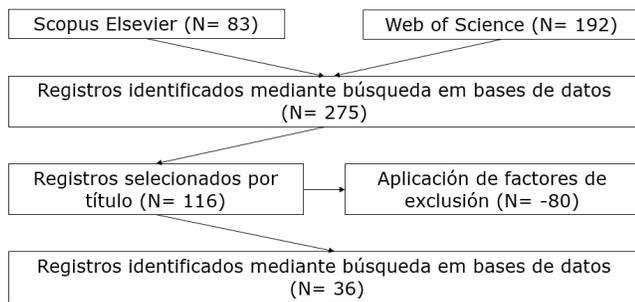
Luego, los artículos seleccionados fueron evaluados según los criterios de inclusión: 1.) Sólo se consideraron estudios *in vivo* utilizando vacas, ovejas, cabras o búfalas lecheras; 2.) Sólo estudios que utilizaron aceites esenciales puros o una mezcla de aceites esenciales utilizados como aditivos alimentarios; 3.) No se consideraron los estudios que no recopilaban datos sistemáticos; 4.) Revistas entre los años 2018 y 2023; 5.) El texto completo del artículo está disponible; 6.) El artículo presenta datos sobre el rendimiento animal y el consumo de materia seca; 7.) El trabajo cuenta con un grupo de control; y 8.) Los autores proporcionaron la metodología utilizada o sus referencias.

El resultado de un solo estudio no fue considerado como criterio de inclusión en esta base de datos y los criterios de exclusión fueron: 1.) Artículos fuera del tema; 2.) Artículos sin resúmenes; 3.) Artículos de revisión o metaanálisis; 4.) Artículos de experimentos *in vitro*; y 5.) Artículos repetidos. Por lo tanto, los artículos que cumplieron con todos los criterios descritos pasaron a la fase de revisión del texto completo. Los artículos seleccionados fueron evaluados críticamente por su relevancia y calidad en relación con los objetivos de esta revisión sistemática en términos de diseño experimental, tratamientos y análisis de datos.

**Extracción de datos.** Luego de revisar el texto completo, se extrajeron y tabularon los siguientes datos: 1.) Datos relacionados con la identificación del trabajo, diseño experimental, raza, número de animales, parición, días de lactancia, base alimentaria, consumo de materia seca (CMS en kg/día), peso corporal, score de condición corporal, número de tratamientos, tipo de aceite esencial o componente activo utilizado, dosis suministrada, período experimental; 2.) Datos sistemáticos evaluados por cada autor, como producción de leche por individuo (PLI), porcentaje de grasa, proteína y lactosa en la leche, leche corregida por energía (ECM), eficiencia alimentaria, consumo de materia seca, digestibilidad aparente de la materia seca, Emisión de CH<sub>4</sub>, producción de ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen, porcentaje de acetato, propionato y butirato. Sólo se incluyeron los parámetros informados en al menos 10 estudios (>27%), excepto las emisiones de CH<sub>4</sub>.

## RESULTADOS

La búsqueda sistemática registró 275 artículos científicos. Después de examinar cada título, resumen y palabras clave, se excluyeron 159 artículos porque no contenían al menos una palabra clave para cada criterio. De los 116 artículos restantes, 69 fueron excluidos por no abordar el tema de interés, eran artículos de revisión, metaanálisis o estudios *in vitro*. Quedaron 46 artículos, de los cuales 11 se repitieron en ambas bibliotecas virtuales utilizadas y fueron excluidos. Finalmente, se incluyeron 36 artículos en esta revisión sistemática (Figura 1).



**Figura 1.** Diagrama de flujo PRISMA de selección del estudio y proceso de inclusión.

De los 36 estudios agregados a la base de datos, el 81% se realizaron con vacas lecheras, siendo la raza más común la Frisona Holstein (90%), y el resto utilizó razas Jersey (6.6%) y mixta (3.3%). Una minoría de los animales incluía ovejas (10.8%), búfalas (8.10%) y cabras (2.70%), todas ellas de razas lecheras. El número de muestras (N) por experimento varió mucho, la mayoría de los estudios utilizaron entre 21 y 30 animales, el experimento con el menor N fue de 4 animales en un diseño de cuadrado latino 4x4, y el estudio con el mayor N evaluó 140 animales en un diseño completamente al azar.

Los diseños experimentales variaron entre los estudios, el 36.84% de los estudios utilizó un diseño completamente al azar, el 34.21% utilizó un diseño de cuadrado latino, todos los animales fueron sometidos a todos los tratamientos en diferentes momentos y el 31.57% de los experimentos utilizó un diseño de bloques al considerar el número de partos, días de lactancia, producción promedio de leche, peso corporal y score de condición corporal. La duración del período experimental varió, los estudios consideraron menos de 60 días (52.69%) y más de 60 días (47.29%), siendo el estudio más largo de 126 días; el tiempo de inclusión también varió y se realizó en momentos específicos o de forma continua durante todo el período experimental.

La etapa más común del ciclo productivo fue el período de lactancia (86.48%), en diferentes puntos de la curva de lactancia, seguido del período de transición (13.51%); sólo un estudio informó el uso de aceites esenciales tanto en el período de transición como en el de lactancia. Todos los estudios utilizaron alimentos totalmente mixtos que contenían una mezcla de diversos forrajes (por ejemplo, ensilajes de maíz y pasto, henos de pasto y alfalfa, cosecha entera o paja) que representaban entre el 52% y el 83%

de la dieta, y el concentrado que normalmente estaba compuesto por una mezcla de cereales, como maíz molido, salvado o cáscaras de soja y cebada.

En cuanto al tipo de aditivo, la mayoría de los estudios utilizaron mezclas de aceites esenciales a través de formulaciones comerciales (56.75%), otros estudios utilizaron aceites esenciales puros (27.02%) y una minoría utilizó una mezcla de aceites esenciales y otros aditivos (16.21%) como levadura, enzimas combinadas, oligoelementos o monensina. Los compuestos bioactivos más comunes fueron eugenol, carvacrol, timol, cinamaldehído, capsaicina, linalool, p-cimeno, anetol, vainillina y limoneno.

En general, la base de datos de esta revisión sistemática muestra que el 48.65% de los artículos analizados para la producción de leche mostraron un efecto de los fitonutrientes sobre este parámetro, mientras que el 51.35% no mostró ningún efecto sobre la producción de leche. En cuanto a la composición centesimal de la leche, centrándonos en los porcentajes de grasa, proteína y lactosa, la mayoría de los estudios no reportaron ningún efecto de la adición de fitonutrientes en la dieta de las vacas lecheras, el 71.43% no mostró efecto sobre el porcentaje de grasa, de la misma forma para proteína y lactosa, 62.86% y 75.86%, respectivamente. Sólo 15 estudios evaluaron la eficiencia alimenticia después de la inclusión de fitonutrientes, de los cuales el 66,67% observaron un aumento en esta variable. De los 20 estudios que evaluaron la digestibilidad, el 50% reportó la presencia de algún efecto cuando los animales fueron tratados con algún tipo de compuesto bioactivo. La producción ruminal de AGV fue evaluada en el 51.35% de los estudios seleccionados, considerando la concentración de acetato, butirato y propionato. No se observó ningún efecto sobre la producción de AGV en el rumen. Los extractos vegetales no influyeron en las concentraciones totales de AGV y propionato.

Sólo en el 24.32% de los estudios seleccionados se reportaron datos de emisiones de CH<sub>4</sub>, aunque esta variable requiere atención debido al pequeño número registrado. En general, la mayoría informó efectos positivos en la reducción de las emisiones de CH<sub>4</sub> en respuesta al uso de fitonutrientes. En resumen, el resultado (efecto) fue considerado por la variable de respuesta (ausencia o presencia de efecto), sin considerar un resultado beneficioso o perjudicial para el parámetro en cuestión. Por ejemplo, la adición

de aceite esencial alteró significativamente la producción de leche, la variable de respuesta en este caso fue la presencia de efecto, de acuerdo con la metodología utilizada para formular esta base de datos (7). En general, los artículos seleccionados no mostraron ningún efecto de la adición de compuestos bioactivos al alimento

para rumiantes sobre la producción de leche, el porcentaje de grasa, proteína y lactosa en la leche, el consumo de alimento y la producción de ácidos grasos volátiles, aunque la mayoría de los investigadores informaron efectos sobre la eficiencia alimentaria y las emisiones de metano. El resumen de los estudios incluidos en esta revisión sistemática se encuentra en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Resumen de los estudios incluidos en esta revisión sistemática.

Autor	Título	Fitonutrientes
Mezzetti et al (8)	Efecto de un aditivo alimentario que contiene paredes celulares de levadura, aceites esenciales de clavo y cilantro e <i>Hibiscus sabdariffa</i> administrado a vacas lecheras en plena lactancia sobre el rendimiento productivo, la composición del líquido ruminal y las condiciones metabólicas.	Aceites esenciales de clavo y cilantro e <i>Hibiscus sabdariffa</i>
Kong et al (9)	Investigación Preliminar de los Efectos de Suplementación con Extracto de Romero en la Producción de Leche y Fermentación Ruminal en Vacas Lecheras de Alta Producción	Extracto de romero
Al-Suwaiegh et al (10)	Influencia de los Suplementos Alimenticios Funcionales en la Eficiencia de la Producción de Leche, la Utilización del Alimento, los Metabolitos Sanguíneos y la Salud de las Vacas Holstein durante la Mitad de la Lactancia	Cinamaldehído encapsulado, taninos condensados, capsaicina, piperina y curcumina.
Rossi et al (11)	Efecto de una Mezcla de Aceites Esenciales, Bioflavonoides y Taninos en la Producción de Metano <i>In Vitro</i> y en la Eficiencia de la Producción <i>In Vivo</i> en Vacas Lecheras	Extracto de clavo, geranio, semilla de cilantro, taninos de castaño y bioflavonoides de oliva.
Foskolos et al (12)	Efectos de Capsicum y Propil Propano Tiosulfonato sobre la Fermentación Ruminal, la Digestión, la Producción y Composición de la Leche en Vacas Lecheras	Oleorresina de Capsicum
Benchaar (13)	La alimentación con aceite de orégano y su componente principal, carvacrol, no afecta la fermentación ruminal, la utilización de nutrientes, las emisiones de metano, la producción de leche ni la composición de ácidos grasos de la leche en vacas lecheras.	Aceite de orégano y carvacrol
Elcoso; Zweifel; Bach (14)	Efectos de una mezcla de aceites esenciales sobre la producción de leche y la eficiencia alimentaria de vacas lecheras lactantes.	Eugenol, acetato de geranio y aceites esenciales de cilantro.
Kolling et al (15)	Rendimiento y emisiones de metano en vacas lecheras alimentadas con extractos de orégano y té verde como aditivos alimentarios.	Extractos de orégano y té verde.
Daning et al (16)	Efecto de la Suplementación de Aceite Esencial de Galanga ( <i>Alpinia galanga</i> ) sobre la Producción, Composición y Características de los Ácidos Grasos de la leche en Vacas Lecheras.	Aceite esencial de galanga
Al-Suwaieghi et al (17)	Efecto de una Mezcla de Aceites Esenciales sobre el Rendimiento de las Vacas Lecheras durante los Períodos de Tratamiento y Postratamiento	Aceites esenciales de clavo, orégano y enebro.
Da Silva et al (18)	Una mezcla de aceites esenciales mejoró la eficiencia alimentaria y afectó las variables ruminales y sistémicas de las vacas lecheras	Capsaicina y formas puras de carvacrol, cinamaldehído y eugenol.
Salem et al (19)	Efecto de la suplementación con aceites de plantas aromáticas sobre la inmunidad, la salud de la ubre y la producción de leche en vacas Frisonas	Aceites esenciales de semilla negra, flor de manzanilla y orégano.
Silva et al (20)	Digestibilidad de nutrientes, fermentación ruminal y producción de leche en vacas lecheras alimentadas con una mezcla de aceites esenciales y amilasa.	Aceites esenciales de timol, eugenol, limoneno y vainillina.
Hausmann et al (21)	Efectos de una combinación de compuestos lipídicos bioactivos vegetales y biotina en comparación con monensina sobre la condición corporal, el metabolismo energético y el rendimiento lechero en vacas lecheras en transición	Aceites esenciales de timol, eugenol, limoneno y vainillina.
Matra; Wanapat (22)	La suplementación con pellets de fitonutrientes mejoró la eficiencia de la fermentación ruminal y la producción de leche en vacas lactantes cruzadas Holstein Frisonas	Polvo de pitaya
Mirzaei-Alamouti et al (23)	Digestibilidad de nutrientes, metabolitos sanguíneos y desempeño productivo de ovejas periparturientas alimentadas con extracto vegetal y monensina.	Llantén mayor y menta peperita

Hassan et al (24)	Consecuencias de la suplementación con mezclas de hierbas sobre el rendimiento lechero, la fermentación ruminal y la diversidad bacteriana en búfalas de agua.	Pimienta negra, jengibre, canela, menta piperita, ajowan, ajo
Kalaitis et al (25)	Efectos del Cornus y su mezcla con aceites esenciales de orégano y tomillo sobre el desempeño de ovejas lecheras y la calidad de la leche, yogur y queso bajo estrés calórico.	Aceites esenciales de orégano y tomillo
Kholif et al (26)	Complementación superficial con aditivos fitogénicos quelados en la dieta de vacas Frisonas lactantes para mejorar el uso del alimento y el rendimiento de la lactancia.	Linalool, mentol, levomentol, anetol, ácido hexadecanoico
Silva et al (27)	Efectos de los suplementos de extractos vegetales o monensina sobre la ingesta de nutrientes, la digestibilidad, la fermentación ruminal y el metabolismo en vacas lecheras.	Aceites esenciales de carvacrol, cinamaldehído y limoneno.
Dey et al (28)	Influencia de los aditivos fitogénicos en la dieta sobre el rendimiento de la lactancia, las emisiones de metano y el estado de salud de las búfalas Murrah ( <i>Bubalus bubalis</i> ).	Aceite esencial de hoja de eucalipto y hoja de álamo
Benchaar (29)	La suplementación dietética con aceite de tomillo y su componente principal, timol, no alteró favorablemente la fermentación ruminal, no mejoró la utilización de nutrientes ni aumentó la producción de leche en las vacas lecheras.	Aceite esencial de tomillo y timol
Boushehri et al (30)	Efectos de los antioxidantes y prebióticos en forma de pellets de alimento vegetal sobre el desempeño productivo, los parámetros hematológicos y el contenido de inmunoglobulinas en el calostro en vacas lecheras en transición.	Aceite esencial de tomillo, carvacrol y eucaliptol.
El-essawy et al (31)	Efectos de la suplementación con aceites esenciales de anís, clavo y tomillo sobre la fermentación ruminal, metabolitos sanguíneos, producción de leche y composición de la leche en cabras lactantes.	Anetol, eugenol y timol
Carrasco et al (32)	Impacto de la Suplementación con Aceites Esenciales en Alimentación sobre las emisiones de Gases Entéricos y los parámetros de producción en el ganado lechero.	Semilla de cilantro, eugenol y acetato de geranilo.
Khattab et al (33)	Efecto de reemplazar los antibióticos por una mezcla de tomillo y semillas de apio sobre el consumo y la digestión del alimento, la fermentación ruminal, la química sanguínea y la lactancia de ovejas Barki lactantes.	Timol, carvacrol, p-cimeno y $\gamma$ -cadineno
Attri et al (34)	Reducción de la producción de metano entérico en búfalas Murrah ( <i>Bubalus bubalis</i> ) lactantes con mejora del rendimiento productivo y el estado inmunológico mediante la suplementación dietética de aditivo alimentario compuesto.	Hojas secas y molidas de Cordia dichotoma y Holoptelea integrifolia, aceite de ajo, aceite de mostaza y aceite de semilla de algodón.
Kholif et al (35)	Una mezcla de aditivos fitogénicos mejora el rendimiento de la lactancia, la utilización del alimento y la fermentación ruminal de las vacas Frisonas	Mentol, levomentol, beta-linalool, anetol, ácido hexadecanoico, p-mentano
Grazziotin et al (36)	Los patrones alterados de fermentación ruminal en vacas lecheras suplementadas con fitoquímicos mejoran la producción de leche y la eficiencia de la producción	Extractos de taninos de quebracho, quercus y capsicum.
Stivanin et al (37)	Adición de extractos de orégano o té verde a la dieta de vacas Jersey en el período de transición. Comportamiento alimentario y social, ingesta y estado de salud. Extractos de plantas para vacas en el período de transición.	Extractos de orégano y té verde.
Oh; Harper; Hristow (38)	Efectos de la reducción del suministro de proteína cruda sola o en combinación con aceites esenciales sobre la productividad, la función ruminal y la utilización de nutrientes en vacas lecheras.	Carvacrol, eugenol y timol
Joch et al (39)	Potencial <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de una mezcla de compuestos de aceites esenciales para mejorar la fermentación ruminal y el rendimiento en vacas lecheras.	Cresoles, timol, limoneno, vainillina, guaiacol, eugenol y salicilatos
Olijhoek et al (40)	Efecto del material vegetal seco de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.) en la alimentación sobre la producción de metano, la fermentación ruminal, la digestibilidad de los nutrientes y la composición de ácidos grasos de la leche en vacas lecheras.	Aceite esencial de orégano
Oh et al (41)	Efectos de los fitonutrientes aisladamente o en combinación con monensina sobre la productividad de vacas lecheras lactantes.	Capsaicina, eugenol y cinamaldehído
Kholif et al (42)	La mezcla de aceites esenciales con un cóctel de enzimas recientemente desarrollado funciona sinérgicamente para mejorar la utilización del alimento y la producción de leche de las ovejas Farafra en regiones subtropicales.	Aceites esenciales de capsaicina y timol.
Braun et al (43)	Suplementación dietética de aceites esenciales en vacas lecheras: evidencia de efectos estimulantes sobre la absorción de nutrientes	Mentol, eugenol y anetol

## DISCUSIONES

Investigadores de todo el mundo han mostrado interés en evaluar extractos vegetales para la alimentación animal. Aproximadamente más de 17.500 especies aromáticas se almacenan en diferentes plantas, desde flores (*Citrus bergamia*, bergamota), hojas (*Cymbopogon citratus*, limoncillo), madera (*Santalum acuminatum*, sándalo), raíces (*Chrysopogon zizanioides*, vetiver), rizomas (*Zingiber officinale*, jengibre; *Curcuma longa*, azafrán), frutos (*Pimpinella anisum*, anís) y semillas (*Myristica fragrans*, nuez moscada), que darán lugar a aceites esenciales (44).

Un aceite esencial puede contener de 20 a 60 componentes bioactivos en diferentes concentraciones, con dos o tres componentes principales en concentraciones altas (20–70%) en comparación con otros componentes presentes en cantidades mínimas (45). Los nutricionistas que trabajan con rumiantes están interesados en modular la competencia entre diferentes poblaciones microbianas, con el objetivo de mejorar el rendimiento animal, aumentar la eficiencia de la utilización de nutrientes en las dietas (energía y proteína), reducir las pérdidas de nutrientes esenciales durante el metabolismo, es decir, regular los niveles de emisión de metano y la producción ruminal de  $\text{NH}_3\text{-N}$  (46,47).

Los investigadores informan que existe una correlación entre una fuerte actividad antibacteriana y la presencia de monoterpenos, eugenol, cinamaldehído, carvacrol y timol en los aceites esenciales (AE) (48,49). Estos compuestos tienen en común la presencia de hidroxilo en su estructura química, responsable de gran parte de su eficacia antimicrobiana. El hidroxilo permite la interacción con las proteínas de la membrana celular bacteriana, provocando la ruptura y muerte del microorganismo. Los AE pueden interactuar con las membranas celulares microbianas e inhibir el crecimiento de algunas bacterias grampositivas y/o gramnegativas. Como resultado de esta inhibición, la adición de algunos extractos de plantas al rumen da como resultado la inhibición de la desaminación y la metanogénesis (47). En estos casos, puede haber una mejor eficiencia en el uso de proteínas y energía en la dieta, además de contribuir a la reducción de las emisiones de metano.

El patrón de suministro del ingrediente activo fue similar entre los estudios observados. Los animales recibieron individualmente la mezcla de aditivos una vez al día, antes de la alimentación

matutina, en una pequeña fracción de la parte concentrada de la dieta, para asegurar el consumo completo de estos aditivos. Sólo un estudio administró el aditivo en jeringas orales. Sin embargo, hubo discrepancia entre las dosis utilizadas en cada estudio seleccionado, aunque este es un factor extremadamente importante para garantizar el efecto potencial de los compuestos bioactivos. Se deben tener en cuenta las diferencias entre el origen de la planta, la forma de extracción del aceite esencial, el nivel de pureza de cada compuesto bioactivo y la confiabilidad de los productores de mezclas comerciales (3).

La mayoría de los estudios proporcionaron información sobre la producción y composición de la leche, el consumo de materia seca (CMS), la eficiencia alimentaria, la digestibilidad aparente, la emisión de metano y la producción de ácidos grasos volátiles en el rumen. En general, al considerar únicamente los estudios que trabajaron con vacas lecheras, se utilizaron animales con alta producción de leche ( $35,46 \pm 10$  kg/vaca), aunque con diferencias sustanciales dependiendo del número de partos y del número de días de lactancia (DEL). Se observaron cambios no sólo en la producción de leche mediante la adición de fitonutrientes que contienen cinamaldehído encapsulado, curcumina, taninos condensados, capsaicina y piperina en una dosis de 35 g/vaca/día a la dieta de las vacas Frisonas lactantes, sino también en la composición de la leche. (10). Se registró un aumento significativo en la producción de sólidos no grasos y una tendencia al alza en los rendimientos de lactosa y proteína. Otros estudios también han informado una mayor producción de leche combinada con un menor consumo de alimento y, en consecuencia, una mejor eficiencia alimentaria con el suministro de fitonutrientes (11,14).

Sin embargo, algunos estudios no han reportado ningún efecto de los fitonutrientes basados en aceites esenciales de orégano, clavo y pimienta sobre el consumo de materia seca y la producción de leche en vacas lecheras lactantes (13,50). El suministro de té verde y orégano no influyó en variables como el CMS y la producción de leche de vacas lecheras entre 28 y 87 días de lactancia. Sin embargo, los autores destacan la existencia de pocos y pequeños efectos aditivos al proporcionar extractos de té verde y orégano juntos, especialmente para los coeficientes de digestibilidad, la proporción molar de acetato y butirato en relación con los AGV totales y la proporción acetato/propionato, así como

cambios en el perfil de ácidos grasos en la leche, que es la principal contribución del estudio (15).

En cuanto a la composición centesimal de la leche, las respuestas inconsistentes en la literatura pueden deberse a la etapa de lactancia, al tipo y combinación de extractos vegetales o a las dosis utilizadas. Los estudios que han demostrado un aumento en la producción de grasa y proteína especulan que esto podría estar relacionado con un cambio en el perfil de AGV del rumen (14,19). Sin embargo, Silva et al. explican que las razones de las diferencias en la composición centesimal de la leche no están claras, ya que las concentraciones de propionato en el rumen y la glucosa en sangre observadas no se vieron afectadas por los tratamientos con aceites esenciales de timol, eugenol, vainillina y limoneno (20).

Por el contrario, el propionato ruminal, un precursor de la glucosa y la lactosa, aumentó con la inclusión de aceites esenciales (capsaicina y timol), aunque el consumo de alimento fue el mismo para todos los tratamientos, la conversión alimenticia en la leche mejoró considerablemente en los grupos que recibieron la mezcla de aceites esenciales 9.3-22.1% (producción de leche con corrección energética/consumo de materia seca), respectivamente (42). Asimismo, un estudio comparó una mezcla de capsaicina, eugenol y cinamaldehído (CEC) con monensina (MO) y observó un aumento en la eficiencia alimentaria en el grupo tratado con estos compuestos bioactivos. El aumento en la eficiencia alimentaria por el CEC puede ser un artefacto de la disminución no significativa en el CMS en este tratamiento en comparación con MO (41).

La digestibilidad aparente de los nutrientes se expresó de diferentes maneras entre los artículos seleccionados. En algunos casos se utilizó un marcador interno, en otros estudios los coeficientes de digestión se presentaron según Ferret et al (51). Los investigadores evaluaron la digestibilidad total aparente de la dieta (DTa), y el grupo tratado con una mezcla de clavo, semilla de cilantro, geranio, taninos condensados de castaño y bioflavonoides de oliva (10 g/día/vaca) mostró un aumento del 23.57% y 1.8% en la DTa de celulosa ( $p \leq 0.001$ ) y almidón, respectivamente ( $p = 0.0023$ ). Debido a la acción que ejercen los compuestos bioactivos sobre la microbiota ruminal, se observa una actividad más viable. La presencia de fitonutrientes derivados

de la cáscara de pitaya (compuestos fenólicos, taninos condensados, saponinas) mejoró la digestibilidad de la MS y la MO. Este efecto pudo haber ocurrido debido a que la concentración de fitonutrientes utilizados provocó un cambio fluctuante en los microorganismos ruminales, mejorando así la digestión sin afectar el consumo de materia seca (22).

Los fitoquímicos de origen vegetal que contienen capsaicinoides pueden aumentar el consumo de alimento debido a su pungencia, actuar como modificadores de la fermentación ruminal y dar como resultado una mayor concentración total de AGV y propionato, como observó Graziotin et al. (36). Este efecto se observó de manera similar con la adición de fitonutrientes a la cáscara de pitaya. La proporción molar de propionato y AGV total mejoró significativamente con la inclusión, mientras que la proporción de acetato disminuyó. Los autores asocian este resultado con el efecto de los fitonutrientes sobre los microorganismos ruminales y el aumento de la población bacteriana total en el rumen, lo que en consecuencia mejora la fermentación ruminal (22).

La mayoría de los estudios seleccionados no observaron ningún efecto sobre la producción de AGV en el rumen. Los extractos vegetales no influyeron en la concentración total de AGV y propionato. La falta de efecto al administrar té verde (TV) y orégano (ORE) por separado sobre las concentraciones de acetato, propionato, butirato y AGV totales puede indicar que la cantidad residual de hidrógeno no cambió con la inclusión de extractos de plantas. Sin embargo, cuando estos fitoquímicos se usan juntos (TV + ORE), el autor informa una tendencia hacia una disminución en la proporción acetato/propionato en comparación con la alimentación con extracto de orégano (15).

La ventaja de los aceites esenciales radica en el sinergismo entre sus componentes. Cuando los AE naturales se aplican con la suma de sus componentes menores, se evidencian respuestas diferentes en comparación con los efectos de las sustancias individuales. Estos componentes pueden verse potenciados por otras pequeñas moléculas presentes en la composición de los AE que pueden interferir con la penetración celular, la atracción lipofílica o hidrofílica y la fijación en las paredes o membranas celulares, así como la distribución celular, todas características relevantes, ya que la distribución de los AE en la celda define las reacciones producidas (5).

En cuanto a las emisiones de metano, el orégano y el té verde lograron reducir las emisiones de CH<sub>4</sub> por kg de MS digerible ingerido debido a la presencia de carvacrol y timol en el orégano y catequinas y saponinas en el té verde. Esto se justifica por el aumento de la fracción digestible de la MS ingerida, probablemente debido a la actividad antimicrobiana de los fitonutrientes o a la modificación de la abundancia de microorganismos metanogénicos y otros relacionados con la producción de CH<sub>4</sub> (15).

La inclusión con aceite esencial de clavo y oleoresina de capsicum tuvo un efecto positivo en las emisiones diarias de CH<sub>4</sub>, medidas con el sistema GreenFeed. El tratamiento disminuyó la producción de CH<sub>4</sub> (kg CH<sub>4</sub>/kg CMS) y tendió a disminuir la intensidad de CH<sub>4</sub> (kg CH<sub>4</sub>/kg de leche o producción de leche con corrección energética) en un 5% en productos botánicos (BTC). Aunque este resultado es alentador, los autores informan que se deben realizar más estudios *in vivo* para monitorear una variedad de dietas y tasas de inclusión para confirmar este efecto (50). De manera similar, la producción de metano ruminal difirió significativamente entre las vacas suplementadas con cilantro, eugenol y acetato de geranilo desde la cuarta semana hasta la octava semana de suplementación (14).

La inclusión de hojas de álamo (*Populus deltoides*) y eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) como fitonutrientes en la dieta de búfalas lecheras resultó en una reducción del 37,3% en la concentración de metano exhalado en el aire. Los investigadores han sugerido una modulación de la fermentación ruminal por compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y aceites esenciales) presentes en los aditivos, lo que puede indicar una inhibición directa de los metanógenos y cambios en la fermentación ruminal (28). Otro estudio con búfalas lecheras evaluó una mezcla de compuestos bioactivos a base de hojas secas y molidas de *Cordia dichotoma* y *Holoptelea integrifolia*, aceite de ajo, nitrato de sodio, sulfato de magnesio, aceite de mostaza y aceite de semilla de algodón. El estudio sugiere que la inclusión de aditivos compuestos fue eficaz para reducir las emisiones entéricas de metano en un 44,6% y mejorar el rendimiento productivo y el estado inmunológico de las búfalas lecheras (34).

Los fitonutrientes han sido investigados por su potencial para modificar la fermentación ruminal, en vista de sus efectos antimicrobianos. Sin embargo, los resultados observados en la literatura son inconsistentes y contradictorios; Evidentemente, las cuestiones relacionadas con el nivel de pureza y las dosis son decisivas a la hora de evaluar el efecto potencial de cada componente bioactivo. Esto también fue una limitación para nuestra revisión sistemática, ya que el alto grado de heterogeneidad en esta base de datos no permitió una comparación metanalítica. Como se observa en las búsquedas, el foco principal de la investigación es el funcionamiento del rumen. Sin embargo, estudios recientes han proporcionado evidencia de que los fitonutrientes tienen efectos fisiológicos mediados por receptores en los animales hospedadores incluidos efectos sobre la inmunidad, el estrés oxidativo y el estado inflamatorio. Por lo tanto, el uso de fitonutrientes debe evaluarse en experimentos a largo plazo para dilucidar completamente sus efectos fisiológicos en animales lecheros de alta producción.

### **Declaración de conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses. Los patrocinadores fundadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio; en la recopilación, análisis o interpretación de datos; en la redacción del manuscrito y en la decisión de publicar los resultados.

### **Financiación**

Este trabajo fue realizado con el apoyo de la Coordinación de Perfeccionamiento del Personal de la Educación Superior – Brasil (CAPES), CNPq (Brasil) – Código de Financiamiento 001.

### **Contribuciones de los autores**

Los autores contribuyeron igualmente a la preparación del manuscrito.

## REFERENCIAS

1. Oliveira LFT, Silva SP. Mudanças Institucionais e Produção Familiar na Cadeia Produtiva do Leite no Oeste Catarinense. *Revista de Economia e Sociologia Rural*. 2012; 50(4):705–720. <https://doi.org/10.1590/S0103-20032012000400007>
2. Bertoni G, Trevisi E, Lombardelli R. Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*. 2016; 8(4):491–518. <https://doi-org.ez47.periodicos.capes.gov.br/10.4081/ijas.2009.491>
3. Oh J, Wall EH, Bravo DM, Hristov AN. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. *J Dairy Sci*. 2017; 100(7):5974–5983. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12341>
4. Monteschio JO. Dietas suplementadas com óleos essenciais de cravo e alecrim e óleos protegidos (eugenol, timol e vanilina) sobre a qualidade da carne de novilhas terminada em confinamento [Tese de Doutorado]. Universidade Estadual de Maringá; 2017. <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/4671>
5. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46(2):446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
6. Ribeiro-Santos R, Andrade M, Sanches-Silva A. Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging. *Curr Opin Food Sci*. 2017; 14:78–84. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.012>
7. Neyeloff JL, Fuchs SC, Moreira LB. Meta-analyses and Forest plots using a microsoft excel spreadsheet: Step-by-step guide focusing on descriptive data analysis. *BMC Res Notes*. 2012; 5(1):1–6. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-52>
8. Mezzetti M, Premi M, Minuti A, Bani P, Loppreiato V, Trevisi E. Effect of a feed additive containing yeast cell walls, clove and coriander essential oils and Hibiscus sabdariffa administered to mid-lactating dairy cows on productive performance, rumen fluid composition and metabolic conditions. *Italian Journal of Animal Science*. 2021; 21(1):86–96. <https://doi-org/10.1080/1828051X.2021.2019619>
9. Kong F, Wang S, Dai D, Cao Z, Wang Y, Li S, Wang W. Preliminary investigation of the effects of rosemary extract supplementation on milk production and rumen fermentation in high-producing dairy cows. *Antioxidants*. 2022; 11(9):1715. <https://doi.org/10.3390/antiox11091715>
10. Al-Suwaiegh SB, Almotham AM, Alyousef YM, Mansour AT, Al-Sagheer AA. Influence of Functional Feed Supplements on the Milk Production Efficiency, Feed Utilization, Blood Metabolites, and Health of Holstein Cows during Mid-Lactation. *Sustainability*. 2022; 14:8444. <https://doi.org/10.3390/su14148444>
11. Rossi CAS, Silvia G, Dell’Anno M, Compiani R, Rossi L. Effect of a blend of essential oils, bioflavonoids and tannins on in vitro methane production and in vivo production efficiency in dairy cows. *Animals*. 2022; 12(6):728. <https://doi.org/10.3390/ani12060728>
12. Foskolos A, Ferret A, Siurana A, Castillejos L, Calsamiglia S. Effects of capsicum and propyl-propane thiosulfonate on rumen fermentation, digestion, and milk production and composition in dairy cows. *Animals*. 2020; 10:859. <https://doi.org/10.3390/ani10050859>
13. Benchaar C. Feeding oregano oil and its main component carvacrol does not affect ruminal fermentation, nutrient utilization, methane emissions, milk production, or milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2020; 103(2):1516–1527. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17230>

14. Elcoso G, Zweifel B, Bach A. Effects of a blend of essential oils on milk yield and feed efficiency of lactating dairy cows. *Applied Animal Science* 2019; 35(3):304-311. <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01825>
15. Kolling GJ, Stivanin SCB, Gabbi AM, Machado FS, Ferreira AL, Campos MM, Fischer V. Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives. *Journal of Dairy Science*. 2018; 101(5):4221-4234. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13841>
16. Daning DRA, Widyobroto BP, Yusiati LM, Hanim C. Effect of galangal (*Alpinia galanga*) essential oil supplementation on milk production, composition, and characteristics of fatty acids in dairy cows. *Adv Anim Vet Sci*. 2022; 10(1):192-202. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.1.192.202>
17. Al-Suwaiegh SB, Morshedy SA, Mansour AT, Ahmed MH, Zahran SM, Alnemr TM, Sallam SMA. Effect of an Essential Oil Blend on Dairy Cow Performance during Treatment and Post-Treatment Periods. *Sustainability*. 2020; 12(21):9123. <https://doi.org/10.3390/su12219123>
18. Silva RB, Pereira MN, Araujo RC, Silva WR, Pereira RAN. A blend of essential oils improved feed efficiency and affected ruminal and systemic variables of dairy cows. *Translational Animal Science*. 2020; 4(1):182–193. <https://doi.org/10.1093/tas/txz183>
19. Salem AY, El-Awady HG, El-Dein MAT, Eisa DA. Effect of supplementation of aromatic plants oils on immunity, udder health and milk production of Friesian cows. *Slovenian Veterinary Research*. 2019; 56(22):523-530. <https://doi.org/10.26873/SVR-790-2019>
20. Silva GG, Takiya CS, Del Valle TA, de Jesus EF, Grigoletto NT, Nakadonari B, Rennó FP. Nutrient digestibility, ruminal fermentation, and milk yield in dairy cows fed a blend of essential oils and amylase. *Journal of Dairy Science*. 2019; 101(11):9815-9826. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14789>
21. Hausmann J, Deiner C, Patra AK, Immig I, Starke A, Aschenbach JR. Effects of a combination of plant bioactive lipid compounds and biotin compared with monensin on body condition, energy metabolism and milk performance in transition dairy cows. *PloS One*. 2018; 13(3):e0193685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193685>
22. Matra M, Wanapat M. Phytonutrient pellet supplementation enhanced rumen fermentation efficiency and milk production of lactating Holstein-Friesian crossbred cows. *Animal Nutrition*. 2022; 9:119-126. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.12.002>
23. Mirzaei-Alamouti H, Namdarpour H, Abdollahi A, Amanlou H, Patra A K, Shahir M H, ... Vazirigohar M. Nutrient digestibility, blood metabolites, and production performance of periparturient ewes fed dietary plant extract and monensin. *Small Ruminant Research*. 2021; 202:106453. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106453>
24. Hassan F, Tang Z, Ebeid HM, Li M, Peng K, Liang X, Yang C. Consequences of herbal mixture supplementation on milk performance, ruminal fermentation, and bacterial diversity in water buffaloes. *Peer J*. 2021; 9:e11241. <https://doi.org/10.7717/peerj.11241>
25. Kalaitzidis K, Sidiropoulou E, Tsiftoglou O, Mourtzinos I, Moschakis T, Basdagianni Z, Vasilopoulos S, Chatzigavriel S, Lazari D, Giannenas I. Effects of cornus and its mixture with oregano and thyme essential oils on dairy sheep performance and milk, yoghurt and cheese quality under heat stress. *Animals*. 2021; 11(4):1063. <https://doi.org/10.3390/ani11041063>
26. Kholif AE, Hassan AA, Matloup OH, El A, Ghada M. Top-dressing of chelated phytogenic feed additives in the diet of lactating Friesian cows to enhance feed utilization and lactational performance. *Annals of Animal Science*. 2021; 21(2):657-673. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0086>

27. Silva SNS, Chabrilat T, Kerros S, Guillaume S, Gandra JR, de Carvalho GGP, ... de Freitas Jr JE. Effects of plant extract supplementations or monensin on nutrient intake, digestibility, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2021; 275:114886. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114886>
28. Dey A, Attri K, Dahiya S S, Paul S S. Influence of dietary phytogetic feed additives on lactation performance, methane emissions and health status of Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021; 101(10):4390-4397. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11080>
29. Benchaar C. Diet supplementation with thyme oil and its main component thymol failed to favorably alter rumen fermentation, improve nutrient utilization, or enhance milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2021; 104(1):324-336. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18401>
30. Boushehri M, Sadeghi AA, Chamani M, Aminafshar M. Effects of antioxidants and prebiotics as vegetable pellet feed on production performance, hematological parameters and colostrum immunoglobulin content in transition dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*. 2021; 20(1):1863–1869. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1987158>
31. El-Essawy AM, Anele UY, Abdel-Wahed AM, Abdou AR, Khatta IM. Effects of anise, clove and thyme essential oils supplementation on rumen fermentation, blood metabolites, milk yield and milk composition in lactating goats. *Animal Feed Science and Technology*. 2021; 271:114760. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114760>
32. Carrasco AV, Carlyn BP, Yongjing ZYP, John JM, Edward JD, Frank MM. The impact of essential oil feed supplementation on enteric gas emissions and production parameters from dairy cattle. *Sustainability*. 2020; 12(24):10347. <https://doi.org/10.3390/su122410347>
33. Khattab MSA, Kholif AE, Abd El Tawab AM, Shaaban MM, Hadhoud FI, El-Fouly HA, Olafadehan OA. Effect of replacement of antibiotics with thyme and celery seed mixture on the feed intake and digestion, ruminal fermentation, blood chemistry, and milk lactation of lactating Barki ewes. *Food & Function*. 2020; 11(8):6889-6898. <https://doi.org/10.1039/D0FO00807A>
34. Attri K, Dey A, Dahiya SS, Paul SS, Jerome A, Bharadwaj A, Kakker NK. Abatement of enteric methane production from lactating Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) with improving production performance and immune status through dietary supplementation of composite feed additive. *Environ Sci Pollut Res*. 2020; 27:22476–22485. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08601-x>
35. Kholif AE, Hassan AA, El Ashry GM, Bakr MH, El-Zaiat HM, Olafadehan OA, ... Sallam SMA. Phytogetic feed additives mixture enhances the lactational performance, feed utilization and ruminal fermentation of Friesian cows. *Animal Biotechnology*. 2020; 32(6):708–718. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1746322>
36. Graziotin RCB, Halfen J, Rosa F, Schmitt E, Anderson JL, Ballard V, Osorio JS. Altered rumen fermentation patterns in lactating dairy cows supplemented with phytochemicals improve milk production and efficiency. *Journal of Dairy Science*. 2020; 103(1):301-312. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16996>
37. Stivanin SCB, Vizzotto EF, de Paris M, Zanela MB, Passos LT, Angelo IDV, Fischer V. Addition of oregano or green tea extracts into the diet for Jersey cows in transition period. Feeding and social behavior, intake and health status. *Plant extracts for cows in the transition period*. *Animal Feed Science and Technology*. 2019; 257:114265. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114265>
38. Oh J, Harper M, Hristov AN. Effects of lowering crude protein supply alone or in a combination with essential oils on productivity, rumen function and nutrient utilization in dairy cows. *Animal*. 2019; 13(11):2510-2518. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001083>

39. Joch M, Kudrna V, Haki J, Božik M, Homolka P, Illek J, Výborná A. *In vitro* and *in vivo* potential of a blend of essential oil compounds to improve rumen fermentation and performance of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2019; 251:176-186. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.03.009>
40. Olijhoek DW, Hellwing ALF, Grevsen K, Haveman LS, Chowdhury MR, Løvendahl P, Lund P. Effect of dried oregano (*Origanum vulgare* L.) plant material in feed on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk fatty acid composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102(11):9902-9918. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16329>
41. Oh J, Harper M, Lang CH, Wall EH, Hristov AN. Effects of phytonutrients alone or in combination with monensin on productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2018; 101(8):7190-7198. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14439>
42. Kholif AE, Kassab AY, Azzaz HH, Matloup OH, Hamdon HA, Olafadehan OA, Morsy TA. Essential oils blend with a newly developed enzyme cocktail works synergistically to enhance feed utilization and milk production of Farafra ewes in the subtropics. *Small Ruminant Research*. 2018; 161:43-50. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.02.011>
43. Braun HS, Schrapers KT, Mahlkow-Nerge K, Stumpff F, Rosendahl J. Dietary supplementation of essential oils in dairy cows: evidence for stimulatory effects on nutrient absorption. *Animal*. 2019; 13(3):518-523. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001696>
44. Regnault-Roger C, Vincent C, Arnason JT. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annual Review of Entomology*. 2011; 57:405-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>
45. Akthar MS, Degaga B, Azam T. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 2014; 2(1):001-007. <https://journalissues.org/ibspr/abstract/akthar-et-al/>
46. Beauchemin KA, Krehbiel CR, Newbold CJ. Chapter 7 Enzymes, bacterial direct-fed microbials and yeast: principles for use in ruminant nutrition. *Biology of Growing Animals*. 2006; 4:251-284. [https://doi.org/10.1016/S1877-1823\(09\)70094-3](https://doi.org/10.1016/S1877-1823(09)70094-3)
47. Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*. 2007; 90(6):2580-2595. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2006-644>
48. Chami N, Bennis S, Chami F, Aboussekhra A, Remmal A. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. *Oral Microbiol Immunol*. 2005; 20:106-111. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2004.00202.x>
49. Stefanakis MK, Touloupakis E, Anastasopoulos E, Ghanotakis D, Katerinopoulos HE, Makridis P. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food Control*. 2013; 34(2):539-546. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.024>
50. Silvestre T, Räisänen SE, Cueva SF, Wasson DE, Lage CFA, Martins LF, et al. Effects of a combination of Capsicum oleoresin and clove essential oil on metabolic status, lactational performance, and enteric methane emissions in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2022; 105(12):9610-9622. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22203>
51. Ferret A, Plaixats J, Caja G, Gasa J, Prió P. Using markers to estimate apparent dry matter digestibility, faecal output and dry matter intake in dairy ewes fed Italian ryegrass hay or alfalfa hay. *Small Ruminant Research*. 1999; 33(2):145-152. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(99\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00015-2)