

Creosote bush (*Larrea tridentata*) biomass as fodder for sheep

Biomasa de gobernadora (*Larrea tridentata*) como forraje para borregos

Israel Hernández-Baez¹; Juan C. García-López¹; Guillermo Espinosa-Reyes¹;
Héctor Aaron Lee-Rangel¹; Daniel Andrés Faz-Colunga¹;
Juan Manuel Pinos-Rodríguez^{2*}

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Programas Multidisciplinarios de Posgrado en Ciencias Ambientales, Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Facultad de Agronomía y Veterinaria. San Luis Potosí, S. L. P. C.P. 78000.

²Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Miguel Ángel de Quevedo s/n esq. Yañez, Unidad Veracruzana, Veracruz, Ver. C.P. 91710.

*Corresponding author: jpinos@uv.mx tel: (229) 9342075.

Abstract

The aim of this work was to determine the effect of integrated diets with creosote bush (*Larrea tridentata*) biomass added as fodder for sheep on feed intake, weight gain, pH, rumen protozoa and concentration of *Eimeria* spp. oocysts in feces. The entire creosote bush plant was incorporated as fodder at 0 (control), 5 and 10 % (dry basis) in integrated diets, replacing sorghum straw. Diets were randomly assigned to 21 Rambouillet sheep (22.1 ± 1.7 kg live weight). The trial lasted 60 days. The sheep fed with 5 and 10 % creosote bush had lower ($P<0.04$) intake than the control. Weight gain, feed efficiency and rumen pH had values with non-significant differences. The number of rumen protozoa and oocysts in feces decreased ($P<0.02$) as the percentage of creosote bush in the diet increased. Therefore, the results indicate that it is feasible to use up to 10 % creosote bush biomass in sheep diets.

Keywords: Feed intake, Coccidia, *Eimeria*, protozoa.

Resumen

La identificación del efecto de dietas integrales con la adición de biomasa del arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) como forraje para borregos sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, pH, protozoarios ruminales y, concentración de ooquistes de *Eimeria* spp. en heces, fue el objetivo de este trabajo. Se incorporó como forraje la planta completa de gobernadora en 0 (testigo), 5 y 10 % (base seca) en dietas integrales en sustitución de paja de sorgo. Las dietas fueron asignadas aleatoriamente a 21 borregos Rambouillet (22.1 ± 1.7 kg de peso vivo). El ensayo tuvo una duración de 60 días. Los borregos alimentados con 5 y 10 % de gobernadora tuvieron menor ($P<0.04$) consumo que el testigo. Ganancia de peso, eficiencia alimentaria y pH ruminal tienen valores con diferencias no significativas. El recuento de protozoarios ruminales y de ooquistes en heces fueron disminuidos ($P<0.02$) conforme se incrementó el porcentaje de gobernadora en la dieta. Por lo tanto, los resultados indican que es factible utilizar hasta el 10 % de biomasa de gobernadora en las dietas para borregos.

Palabras clave: Consumo de alimento, Coccidia, *Eimeria*, protozoarios.



Introduction

Mexico has 128 million hectares of arid and semi-arid areas where half of the human population lives (Luiselli Fernández, 2007). The ecological and productive importance of these areas is that they are only suitable for the extensive production of sheep and goats (Villalobos, García, & Avila, 2017). In this system, livestock feed represents more than 60 % of the production cost. However, this percentage increases when dryness increases because expensive feed supplements are generally purchased (Gómez y González, Pinos Rodríguez, & Aguirre Rivera, 2009). Therefore, in drought conditions, the search for unconventional, regionally produced feeds acquires importance.

The creosote bush (*Larrea tridentata*) is distributed over almost 19 million hectares in the arid areas of central and northern Mexico and the southern United States. Creosote bushes are evergreen xerophilous shrubs with multiple branches with leaves covered by a resinous substance with a pungent smell and bitter taste. The bushes almost always remain green, although during severe droughts they turn a yellowish brown. Creosote bush is considered a disturbance indicator plant that is the focus of extensive control efforts (Arteaga, Andrade-Cetto, & Cárdenas, 2005).

In addition, the creosote bush is a plant with historical importance in traditional medicine. Its leaves and stems have 4 % of the lignan called nordihydroguaiartic acid (NDGA) (Hyder, Fredrickson, Estell, Tellez, & Gibbens, 2002). Other compounds such as phenols, flavonoids, saponins, sapogenins, tannins, sterols and terpenes have also been identified in creosote bush extracts (Jitsuno & Mimaki, 2010; Gnabre, Bates, & Chih Huang, 2015). These bioactive creosote bush compounds have antioxidant (Skouta, Morán-Santibañez, Valenzuela, Vasquez, & Felonon, 2018), anti-inflammatory and contraceptive (De Melo et al., 2009), antifungal (Aguirre-Joya, Pastrana-Castro, Nieto-Oropeza, Ventura-Sobrevilla, Rojas-Molina, & Aguilar, 2018), antimicrobial (Hwu, Hsu, & Huang, 2008), anthelmintic (Garcia et al., 2018) and anti-protozoan effects (Schmidt, Rzeppa, Kaisr, & Brun, 2012; Bashyal, Li, Bains, Debnath, & LaBarbera, 2017).

Despite these phytochemical attributes and the fact that its foliage is voluntarily consumed by goats (Mellado, Rodríguez, Villarreal, Rodríguez, Salinas, & López, 2005), the creosote bush has been little explored as unconventional and functional feed for livestock. Limited information on its use in ruminants was generated by Duisberg (1952) and Holechek et al. (1990), who indicated that creosote bush leaf meal has a similar nutritional value to that of alfalfa, although with lower palatability. In addition to the nutritional

Introducción

En México, 128 millones de hectáreas corresponden a zonas áridas y semiáridas; en ellas habita la mitad de la población humana (Luiselli Fernández, 2007). La importancia ecológica y productiva de estas áreas radica en que son solo aptas para la producción extensiva de ovejas y cabras (Villalobos, García, & Avila, 2017). En este sistema, la alimentación del ganado representa más del 60 % del costo de producción. Sin embargo, ese porcentaje aumenta cuando el estiaje se acentúa, porque generalmente se recurre a la compra de suplementos alimentarios caros (Gómez y González, Pinos Rodríguez, & Aguirre Rivera, 2009). Por lo tanto, en condiciones de sequía, la búsqueda de alimentos no convencionales de producción regional adquiere importancia.

El arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) se distribuye en casi 19 millones de hectáreas de las zonas áridas del centro y norte de México y del sur de Estados Unidos de América. Los matorrales de gobernadora son arbustos xerófilos perennifolios de múltiples ramas con hojas cubiertas por una sustancia resinosa con olor penetrante y sabor amargo. Los arbustos permanecen casi siempre verdes, aunque durante sequías severas se tornan café amarillento. La gobernadora es considerada una planta indicadora de disturbio que es foco de extensos esfuerzos de control (Arteaga, Andrade-Cetto, & Cárdenas, 2005).

Asimismo, la gobernadora es una planta con importancia histórica en la medicina tradicional. Sus hojas y tallos tienen 4 % del lignano denominado ácido nordihydroguaiarético (NDGA) (Hyder, Fredrickson, Estell, Tellez, & Gibbens, 2002). También, en extractos de gobernadora se han identificado otros compuestos como fenoles, flavonoides, saponinas, sapogeninas, taninos, esteroides y terpenos (Jitsuno & Mimaki, 2010; Gnabre, Bates, & Chih Huang, 2015). Estos compuestos bioactivos de gobernadora tienen efecto antioxidante (Skouta, Morán-Santibañez, Valenzuela, Vasquez, & Felonon, 2018), antiinflamatorio y anticonceptivo (De Melo et al., 2009), antifúngico (Aguirre-Joya, Pastrana-Castro, Nieto-Oropeza, Ventura-Sobrevilla, Rojas-Molina, & Aguilar, 2018), antimicrobiano (Hwu, Hsu, & Huang, 2008), antihelmíntico (Garcia et al., 2018) y anti protozoario (Schmidt, Rzeppa, Kaisr, & Brun, 2012; Bashyal, Li, Bains, Debnath, & LaBarbera, 2017).

A pesar de estos atributos fitoquímicos y de que el follaje es consumido de manera voluntaria por cabras (Mellado, Rodríguez, Villarreal, Rodríguez, Salinas, & López, 2005), la gobernadora ha sido poco explorada como alimento no convencional y funcional para el ganado. La información escasa sobre su uso en rumiantes fue generada por Duisberg (1952) y Holechek et al. (1990), quienes indicaron que la harina

value, the creosote bush may have a coccidiostat effect in sheep; however, this knowledge has not been generated. Therefore, the objective of the present study was to identify the effect of integrated diets with creosote bush (*Larrea tridentata*) biomass added as fodder for sheep on feed intake, weight gain, pH and rumen protozoa and concentration of *Eimeria* spp. oocysts in feces.

Materials and methods

Aerial parts of creosote bushes (Figure 1) were collected in the municipality of Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, Mexico. The collection sites are located near 22° 14' 13" N and 100° 51' 36" W at 1 834 meters above sea level, with an average annual temperature of 21 °C and precipitation of 950 mm. The bushes were cut at ground level and transferred to the sheep unit of the Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine of the Autonomous University of San Luis Potosí. There, the bush biomass was dried at ambient temperature in the shade for two weeks and then ground (hammer mill 301085 with ¼ inch screen, Azteca, Guadalajara, Jal., Mexico).

de hojas de gobernadora tiene un valor nutricional similar al de la alfalfa, aunque con menor palatabilidad. Además del valor nutricional, la gobernadora puede tener efecto coccidiostato en ovinos; sin embargo, ese conocimiento no ha sido generado. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue identificar el efecto de dietas integrales con la adición de biomasa del arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) como forraje para borregos sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, pH y protozoarios ruminales y concentración de ooquistes de *Eimeria* spp. en heces.

Materiales y métodos

Partes aéreas de arbustos de gobernadora (Figura 1) fueron recolectadas en el municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México. Los sitios de colecta están ubicados cerca de las coordenadas a 22° 14' 13" N y 100° 51' 36" O a 1 834 msnm, con una temperatura promedio anual de 21 °C y precipitación de 950 mm. Los arbustos fueron cortados a nivel de suelo y trasladados a la unidad ovina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ahí, la biomasa de los arbustos fue



Figure 1. *Larrea tridentata* (creosote bush) specimen.
Figura 1. Ejemplar de *Larrea tridentata* (governadora).

The experimental integrated sheep diets were formulated according to the requirements established by the NRC (2007) for 20 kg live weight sheep with an average daily weight gain (DWG) of 250 g. The ingredients for making the diets were broken yellow corn grain, soybean paste, cane molasses, sorghum straw, minerals and vitamins. The ingredients were weighed and mixed (horizontal paddle mixer 2000, Azteca, Guadalajara, Jal., Mexico). The ground creosote bush matter was added (on a dry basis) to the diet at a rate of 0, 5 and 10 %, replacing ground sorghum straw (Table 1).

The values of the percentage of dry matter (DM), crude protein and ash of creosote bush and the experimental diets were estimated according to the AOAC (2006). Neutral detergent fibre was determined using the method described by Mertens (2002).

The trial involved 21 Rambouillet males, non-castrated and weaned, with an average age of three months and 22.1 ± 1.7 kg live weight. The sheep were housed in individual pens equipped with feeders and drinkers. The animals were randomly adapted to the experimental diets for two weeks. The experimental diets and fresh water were offered daily in the morning on a free access basis considering a rejection of 5 %.

The trial lasted 60 days. The sheep were weighed at the beginning (day 1) and at the end (day 60) with a floor scale. The difference in weight (final-initial) and time (60 days) were considered to calculate the daily weight gain (weight difference/60 days). Feed intake

secada a temperatura ambiente a la sombra durante dos semanas y después molida (molino de martillos 301085 con criba $\frac{1}{4}$ de pulgada, Azteca, Guadalajara, Jal., México).

Las dietas integrales experimentales para ovinos fueron formuladas de acuerdo con los requerimientos establecidos por el NRC (2007) para borregos de 20 kg de peso vivo y una ganancia diaria de peso (GDP) promedio de 250 g. Los ingredientes para la elaboración de las dietas fueron grano quebrado de maíz amarillo, pasta de soya, melaza de caña, paja de sorgo, minerales y vitaminas. Los ingredientes fueron pesados y mezclados (mezcladora horizontal de paletas 2000, Azteca, Guadalajara, Jal., México). La materia de gobernadora molida fue adicionada (en base seca) a la dieta a razón de 0, 5 y 10 % en sustitución de la paja de sorgo molida (Cuadro 1).

Los valores del porcentaje de materia seca (MS), proteína cruda y cenizas de gobernadora y de las dietas experimentales, fueron estimadas de acuerdo con el AOAC (2006). La fibra detergente neutro fue determinada con el método descrito por Mertens (2002).

En el ensayo se involucraron a 21 machos Rambouillet, enteros y destetados, con una edad promedio de tres meses y 22.1 ± 1.7 kg de peso vivo. Los borregos fueron alojados en corraletas individuales equipadas con comederos y bebederos. Los animales fueron adaptados a las dietas experimentales de manera aleatoria durante dos semanas. Las dietas experimentales y agua fresca fueron ofrecidas diariamente en la mañana a libre acceso considerando un rechazo del 5 %.

Table 1. Ingredients and proximal analysis of experimental diets.

Cuadro 1. Ingredientes y análisis proximal de las dietas experimentales.

	<i>Creosote bush</i> % (dry basis)/ <i>Gobernadora</i> % (base seca)		
	0	5	10
Ingredient, % DM/Ingrediente, % MS			
Broken yellow corn/Maíz amarillo quebrado	60	60	60
Soybean paste/Pasta de soya	18	18	18
Cane molasses/Melaza de caña	10	10	10
Sorghum straw/Paja de sorgo	10	5	0
Minerals and vitamins/Minerales y vitaminas	2	2	2
Creosote bush/Gobernadora	0	5	10
Proximal analysis/Análisis proximal			
Dry matter, %/Materia seca, %	87.0	86.7	86.1
Crude protein, % DM/Proteína cruda, % MS	16.1	16.5	16.7
Neutral detergent fiber, % DM/Fibra detergente neutro, % MS	14.5	14.7	14.5
Ash, % DM/Cenizas, % MS	62	63	63

was quantified daily and averaged over the 60 days of the trial. Feed conversion was calculated by dividing daily feed intake by daily weight gain, while feed efficiency was estimated by dividing daily weight gain by feed intake.

At the end of the experiment, after recording the final weight of each sheep and at 3 h after the daytime feeding, a sample (50 mL) of rumen fluid was obtained using an esophageal probe. The samples were used to measure the pH with a potentiometer (Orion Start A221, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America). The rumen fluid samples were immediately transferred to the laboratory and stored at 38 °C until quantification of protozoa. The protozoa were determined by optical counting (x100, Optika B100, Italy) following the method described by Dehority (1984). The concentration of protozoa was expressed on a logarithmic basis ($\log \cdot \text{mL}^{-1}$).

At the end of the study, a stool sample was obtained directly from the rectum of each sheep. Stool samples were kept refrigerated (4 °C) for oocyst counting. The quantification of *Eimeria* spp. oocysts was performed with McMaster's technique, according to the protocol described by Foreyt (2001), with a 10x objective optical microscope (Optika B100, Italy). The oocyst count was expressed in units per gram of feces.

The variables daily weight gain, feed intake, and feed conversion and efficiency were analyzed considering a completely randomized design with seven replicates per treatment. For this, the SAS (2002) MIXED procedure was used; the treatment (diet) was included as a fixed component in the model, while the sheep was involved as a random component. Comparisons of means were made with the Tukey test (SAS, 2002).

Results and discussion

Proximal analysis indicated that the aerial part of the creosote bush contains 85 % dry matter, 12 % crude protein, 58 % neutral detergent fibre and 10 % ash (dry basis) (Table 1). These results indicate that the creosote bush contains amounts of nutrients similar to hay or silage of conventional grasses such as barley, corn and temperate-climate grasses (NRC, 2001). Duisberg reported, in 1952, that the creosote bush has similar nutritional qualities to those of alfalfa hay, with 14.6 % crude protein, 18 % ethereal extract, 13.4 % crude fiber and 9.5 % ash. On the other hand, Guerrero-Cervantes, Ramírez, González-Rodríguez, Cerrillo-Soto, and Juárez-Reyes (2012) indicated that creosote bush mineral content (per kg of dry matter: 21 g Ca, 1.9 g P, 1 g Mg, 1 g Na, 9 g K, 22 mg Cu, 374 mg Fe, 84 mg Mn, 62 mg Zn) is greater than that of the spontaneous vegetation of the summer pastures in northern Mexico. However, the higher content of secondary metabolites contained

El ensayo duró 60 días. Los borregos fueron pesados al inicio (día 1) y al final (día 60) con una báscula de piso. La diferencia de peso (final-inicial) y tiempo (60 días) fueron considerados para calcular la ganancia diaria de peso (diferencia de peso/60 días). El consumo de alimento fue cuantificado diariamente y promediado entre los 60 días del ensayo. La conversión alimentaria fue calculada dividiendo el consumo diario de alimento y la ganancia diaria de peso, mientras que la eficiencia alimentaria fue estimada dividiendo la ganancia diaria de peso entre el consumo de alimento.

Al final del experimento, después del registro del último peso de cada borrego y a las 3 h posteriores a la alimentación diurna, una muestra (50 mL) de fluido ruminal fue obtenida mediante sonda esofágica. Las muestras fueron usadas para medir el pH con un potenciómetro (Orion Start A221, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos de América). Las muestras de fluido ruminal fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio y conservadas a 38 °C hasta la cuantificación de protozoarios. Los protozoos fueron determinados por medio de recuento óptico (x100, Optika B100, Italia) siguiendo el método de Dehority (1984). La concentración de protozoos fue expresada en base logarítmica ($\log \cdot \text{mL}^{-1}$).

Al final del estudio, se obtuvo una muestra de heces directamente del recto de cada borrego. Las muestras de heces fueron mantenidas en refrigeración (4 °C) para el recuento de ooquistes. La cuantificación de ooquistes de *Eimeria* spp. fue realizado con la técnica de McMaster, de acuerdo con el protocolo de Foreyt (2001), con un microscopio óptico a objetivo de 10x (Optika B100, Italia). El recuento de ooquistes fue expresado en unidades por gramo de heces.

Las variables ganancia diaria de peso, consumo de alimento, conversión y eficiencia alimentaria, fueron analizadas considerando un diseño completamente al azar con siete repeticiones por tratamiento. Para ello, fue usado el procedimiento MIXED de SAS (2002); el tratamiento (dieta) fue incluido como componente fijo en el modelo, mientras que el borrego fue involucrado como componente aleatorio. Las comparaciones de medias se hicieron con la prueba de Tukey (SAS, 2002).

Resultados y discusión

El análisis proximal indicó que la parte aérea del arbusto de gobernadora contiene 85 % materia seca, 12 % de proteína cruda, 58 % de fibra detergente neutro y 10 % de cenizas (base seca) (Cuadro 1). Estos resultados indican que la gobernadora contiene cantidades de nutrientes similares a henos o ensilados de gramíneas convencionales como cebada, maíz y zacates de climas templados (NRC, 2001). Duisberg consignó, en 1952,

in creosote bush biomass, compared to conventional fodders, may limit its consumption preference (Estell, 2010).

The results of the growth trial indicate that daily weight gain is associated with non-significant differences between the diets, although the diets with the addition of creosote bush biomass correspond to lower weight gains than the control diet (Table 2). This may be because the three experimental diets have almost similar nutrient contents (Table 1). The evidence indicates that the live weight of the sheep had no significant differences among diets. The sheep fed diets with 5 and 10 % creosote bush dry matter consumed less ($P<0.04$) feed than those fed the diet without creosote bush biomass. As a result of a reduction in intake, feed conversion values decreased ($P<0.05$) due to the effect of the creosote bush diet. The reduction in intake due to creosote bush may be a result of the content of secondary compounds, since the preference or palatability in sheep is negatively related to the concentration of phenolic compounds, condensed and hydrolyzable tannins, and saponins (Estell, 2010).

Feed efficiency is associated with non-significant differences between diets with and without creosote bush dry matter (Table 2), even though creosote bush biomass is not palatable for sheep (Duisberg, 1952). In that context, Duisberg (1952) improved the palatability of creosote bush by removing the resin with an alcoholic extraction. Also, Holechek et al. (1990) indicated that creosote bush has lower palatability and digestibility than alfalfa for goats, although it can be an important source of nutrients.

que la gobernadora posee cualidades nutrimentales similares a las del heno de alfalfa, con 14.6 % de proteína cruda, 18 % de extracto etéreo, 13.4 % de fibra cruda y 9.5 % de cenizas. Por su parte, Guerrero-Cervantes, Ramírez, González-Rodríguez, Cerrillo-Soto, y Juárez-Reyes (2012) indicaron que el contenido mineral de la gobernadora (por kg de materia seca: 21 g Ca, 1.9 g P, 1 g Mg, 1 g Na, 9 g K, 22 mg Cu, 374 mg Fe, 84 mg Mn, 62 mg Zn) es mayor que el de la vegetación espontánea de los agostaderos de la zona norte de México. Sin embargo, el contenido mayor de metabolitos secundarios contenidos en la biomasa de gobernadora, en comparación con forrajes convencionales, puede limitar su preferencia de consumo (Estell, 2010).

Los resultados del ensayo de crecimiento indican que a la ganancia diaria de peso se asocia a diferencias no significativas entre las dietas, aunque a las dietas con adición de biomasa de gobernadora corresponden ganancias de peso menores que a la dieta testigo (Cuadro 2). Esto puede deberse a que las tres dietas experimentales poseen contenidos casi similares de nutrientes (Cuadro 1). Las evidencias indican que el peso vivo de los borregos tuvo diferencias no significativas entre dietas. Los borregos que se alimentaron con las dietas con 5 y 10 % de materia seca de gobernadora consumieron menos ($P<0.04$) alimento que los borregos alimentados con la dieta sin biomasa de gobernadora. Como resultado de una reducción en el consumo, los valores de conversión alimentaria fueron disminuidos ($P<0.05$) por efecto de la dieta con gobernadora. La reducción del consumo por gobernadora puede ser resultado del contenido de compuestos secundarios, ya que la preferencia o palatabilidad en borregos

Table 2. Weight gain, feed intake and feed conversion and efficiency in sheep fed diets with and without creosote bush biomass.

Cuadro 2. Ganancia de peso, consumo de alimento y conversión y eficiencia alimentaria en borregos alimentados con dietas con y sin biomasa de gobernadora.

	Creosote bush, % (dry basis)/ Gobernadora, % (base seca)			EEM	<i>p</i> <
	0	5	10		
Weight gain (DWG), kg·d ⁻¹ /Ganancia de peso (GDP), kg·d ⁻¹	0.32	0.30	0.30	0.049	0.84
Intake (DMI), kg MS·d ⁻¹ /Consumo (CMS), kg MS·d ⁻¹	1.31 ^a	1.14 ^b	1.12 ^b	0.171	0.02
Conversion (DMI/DWG)/Conversión (CMS/GDP)	4.09 ^a	3.80 ^b	3.73 ^c	0.430	0.04
Efficiency (DWG/DMI)/Eficiencia (GDP/CMS)	0.25	0.26	0.26	0.011	0.69

EEM, error estándar de la media

EEM, error estándar de la media

The pH of the rumen fluid of sheep fed diets with creosote bush biomass was similar to that of the control group. However, the protozoan count of the rumen fluid and the number of oocysts in feces were lower ($P < 0.02$) as the percentage of creosote bush dry matter in the diet increased (Table 3). Dichloromethane extracts of creosote bush biomass showed activity against protozoan pathogens causing trypanosomiasis, leishmaniasis and plasmodioasis (Schmidt et al., 2012). In intestinal protozoa (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and *Naeglia fowleri*) of considerable pathogenicity to humans, secondary metabolites of creosote matter were shown to be effective for the therapeutic treatment of amebiasis, giardiasis and primary amebic meningoencephalitis (Bashyal et al., 2017). This anti-protozoan mechanism of creosote bush lignans disrupts the modulation of cysteine protease activity in the trophozoites, thereby reducing their virulence (Bashyal et al., 2017). Information on the effect of creosote bush biomass components on non-pathogenic rumen protozoa is non-existent, but the anti-protozoan mechanism may be similar to that described for pathogenic protozoa in humans.

In general, the health of the sheep was normal, possibly because they did not consume large amounts of lignans. According to Lodge-Ivey, Petersen, & Browne-Silva (2012), *L. tridentata* contains 38 mg·g⁻¹ NDGA; in sheep with a daily intake of 12.5 g of NDGA it can cause harm to the rumen bacterial population and the health of the animal. Therefore, in this study, sheep fed the 10 % creosote bush diet may have consumed 1.12 kg of feed per day, implying a daily intake of 4.2 g of NDGA.

está relacionada negativamente con la concentración de compuestos fenólicos, taninos condensados e hidrolizables, y saponinas (Estell, 2010).

A la eficiencia alimentaria se asocian diferencias no significativas entre las dietas sin y con materia seca de gobernadora (Cuadro 2), aun cuando la biomasa de gobernadora es poco palatable para borregos (Duisberg, 1952). En ese contexto, Duisberg (1952) mejoró la palatabilidad de la gobernadora al eliminar la resina con una extracción alcohólica. También, Holechek et al. (1990) indicaron que la gobernadora tiene menor palatabilidad y digestibilidad que la alfalfa para cabras, aunque puede ser una fuente importante de nutrientes.

El pH del fluido ruminal de los borregos alimentados con dietas con biomasa de gobernadora fue similar al del grupo testigo. Sin embargo, el recuento de protozoarios del fluido ruminal y el número de ooquistes en heces fueron menores ($P < 0.02$) conforme se incrementó el porcentaje de materia seca de gobernadora en la dieta (Cuadro 3). Extractos diclorometanólicos de biomasa de gobernadora mostraron actividad contra protozoos patógenos causantes de tripanosomiasis, leishmaniasis y plasmodiosis (Schmidt et al., 2012). En protozoos intestinales (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Naeglia fowleri*) de patogenicidad considerable para humanos, los metabolitos secundarios de materia de gobernadora mostraron ser eficaces para el tratamiento terapéutico de amebiasis, giardiasis y de meningoencefalitis amebiana primaria (Bashyal et al., 2017). Este mecanismo anti protozoario de los

Table 3. pH values and number of protozoa in rumen fluid, and number of oocysts in feces of sheep fed diets with and without creosote bush biomass.

Cuadro 3. Valores de pH y número de protozoarios en fluido ruminal, y número de ooquistes en heces de borregos alimentados con dietas con y sin biomasa de gobernadora.

	Creosote bush, % (dry basis) / Gobernadora, % (base seca)			SEM/ EEM	P <
	0	5	10		
pH	6.4	6.4	6.3	0.21	0.59
Protozoa (x 10 ⁵ ·mL ⁻¹) / Protozoarios (x 10 ⁵ ·mL ⁻¹)	11.8 ^a	6.4 ^b	5.2 ^c	0.02	0.02
Oocysts per g of feces Log ₁₀ / Ooquistes por g de heces Log ₁₀	12.4 ^c	8.5 ^b	7.4 ^c	0.57	0.01

SEM, standard error of the mean

EEM, error estándar de la media

The benefits and effects of creosote bush consumption on rumen populations and metabolites, nutrient digestibility, and meat and milk quality are unknown. Therefore, creosote bush studies that evaluate changes and adaptability of rumen populations and how these affect rumen and general ruminant metabolism are desirable.

Conclusions

Results suggest that the use of 10 % creosote bush as a source of fodder in sheep diets did not increase daily weight gain, but reduced the load of *Eimeria* spp. oocysts in their feces, meaning it may be useful as a coccidiostat in sheep. Although the creosote bush reduced feed intake, results indicate that the inclusion of *L. tridentata* biomass as fodder in the diet may be suitable in finishing sheep.

End of English version

References / Referencias

- Aguirre-Joya, J. A., Pastrana-Castro, L., Nieto-Oropeza, D., Ventura-Sobrevilla, J., Roja s-Molina, R., & Aguilar, C. N. (2018). The physicochemical, antifungal and antioxidant properties of a mixed polyphenol based bioactive film. *Heliyon* 4, e00942. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00942.
- AOAC (2006). Official Methods of Analysis. 18th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. www.aoac.org
- Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 231-239. doi:10.1016/j.jep.2005.02.002
- Bashyal, B., Li, L., Bains, T., Debnath, A., & LaBarbera, D. V. (2017). *Larrea tridentata*: A novel source for anti-parasitic agents active against *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Naegleria fowleri*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(8), e0005832. doi:10.1371/journal.pntd.0005832
- De Melo, G. O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 228-232. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.024
- Dehority, B. A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), 182-185. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC240360/
- Duisberg, P. C. (1952). Development of a feed from the Creosote Bush and determination of its nutritive

lignanos de gobernadora irrumpe la modulación de la actividad de la proteasa cisteína en los trofozoítos, disminuyendo así su virulencia (Bashyal et al., 2017). La información sobre el efecto de componentes de la biomasa de gobernadora en protozoarios ruminales no patógenos es inexistente, pero el mecanismo anti protozoario puede ser similar al descrito para protozoarios patógenos en seres humanos.

En general, la salud de los borregos fue normal, posiblemente se debió a que no consumieron cantidades grandes de lignanos. De acuerdo con Lodge-Ivey, Petersen, & Browne-Silva (2012), *L. tridentata* contiene 38 mg·g⁻¹ de NDGA; en borregos con un consumo diario de 12.5 g de NDGA puede causar daños sobre la población bacteriana del rumen y la salud del animal. Por lo tanto, en este estudio, los borregos alimentados con la dieta con 10 % de gobernadora pudieron haber consumido 1.12 kg diarios de alimento, lo cual implica un consumo diario de 4.2 g de NDGA.

Los beneficios y afectaciones del consumo de gobernadora en las poblaciones y metabolitos ruminales, digestibilidad de nutrientes y calidad de carne y leche, se desconocen. Por lo tanto, estudios con gobernadora que evalúen cambios y adaptabilidad de las poblaciones ruminales y cómo estos afectan el metabolismo ruminal y general de rumiantes, son deseables.

Conclusiones

Los resultados sugieren que el uso de 10 % de gobernadora como fuente de forraje en dietas para borregos no incrementó la ganancia diaria de peso, pero redujo la carga de ooquistes de *Eimeria* spp. en las heces, lo cual puede ser de utilidad como coccidiostato en ovinos. A pesar de que la gobernadora redujo el consumo de alimento, los resultados indican que la inclusión de biomasa de *L. tridentata* como forraje en la dieta, puede ser conveniente en la finalización de borregos.

Fin de la versión en español

- value. *Journal of Animal Science*, 11(1), 174-180. doi: [10.2527/jas1952.111174x](https://doi.org/10.2527/jas1952.111174x)
- Estell, R. E. (2010). Coping with shrub secondary metabolites by ruminants. *Small Ruminant Research*, 94, 1-9. doi: [10.1016/j.smallrumres.2010.09.012](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.012)
- Foreyt, W. J. (2001). *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 5th ed. Blackwell Publishing Professional. Ames, Iowa, USA.
- García, J. E., Gómez, L., Mendoza-de-Gives, P., Rivera-Corona, J. L., Millán-Orozco J., Ascacio, J. A.,... & Mellado, M. (2018). Anthelmintic efficacy of hydro-methanolic extracts of *Larrea tridentata* against larvae of *Haemonchus contortus*. *Tropical Animal Health and Production*, 50, 1099-1105. doi: [10.1007/s11250-018-1535-5](https://doi.org/10.1007/s11250-018-1535-5)
- Gnabre, J., Bates, R., & Chih Huang, R. (2015). Creosote bush lignans for human disease treatment and prevention: perspectives on combination therapy. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 119-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.024>
- Gómez y González, A., Pinos Rodríguez, J. M., & Aguirre Rivera, J. R. (2009). *Manual de Producción Caprina*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P., México. ISBN 978-970-705-082-2
- Guerrero-Cervantes, M., Ramírez, R. G., González-Rodríguez, H., Cerrillo-Soto, A., & Juárez-Reyes, A. (2012). Mineral content in range forages from north Mexico. *Journal of Applied Animal Research*, 40(2), 102-107. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2011.607907>
- Holechek, J. L., Munshikpu, A. V., Saiwana, L., Nunez Hernandez, G., Valdez, R., Cardenas, M. 1990. Influences of six shrub diets varying in phenol content on intake and nitrogen retention by goats. *Tropical Grasslands* 24: 93-98. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19911439705>.
- Hwu, J. R., Hsu, M. H., & Huang, R. C. (2008). New nordihydroguaiaretic acid derivatives as anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 1884-1888. doi: [10.1016/j.bmcl.2008.02.018](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.02.018)
- Hyder, P. W., Fredrickson, E. L., Estell, R. E., Tellez, M., & Gibbens, R. P. (2002). Distribution and concentration of total phenolics, condensed tannins, and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in Creosote bush (*Larrea tridentata*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(10), 905-912, [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00050-9).
- Jitsuno, M., & Mimaki, Y. (2010). Triterpene glycosides from the aerial parts of *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*, 71, 2157-2167. doi: [10.1016/j.phytochem.2010.09.012](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.09.012)
- Lodge-Ivey, S. L., Petersen, J., & Browne-Silva, J. (2012). Effects of nordihydroguaiaretic acid on in vitro fermentation profiles of rumen bacteria. *Journal of Animal Science*, 90, 4118-4125. doi: [10.2527/jas2012-5339](https://doi.org/10.2527/jas2012-5339)
- Luiselli Fernández, C. (2007). *Agricultura y Alimentación en México: evolución, desempeño y perspectivas*. México, Ciudad de México: Siglo XXI Editores. 475 p. e-isbn: 978-607-03-0985-4
- Mellado, M., Rodríguez, A., Villarreal, J. A., Rodríguez, R., Salinas, J., & López, R. (2005). Gender and tooth wear effects on diets of grazing goats. *Small Ruminant Research*, 57(2-3), 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.03.009>
- Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of the Association Official Analytical Chemists*, 85, 1217-1240. <https://pubag.nal.usda.gov/download/26403/PDF>
- NRC, (2007). *Nutrient Requirement of Small Ruminants; Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. The National Academic Press, Washington, D.C. USA. <https://doi.org/10.17226/11654>
- NRC, (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th Revised Edition. National Academy Press, Washington D.C: USA. <https://doi.org/10.17226/9825>
- SAS, Statistical Analysis System. (2002). *SAS/STAT 9 User's Guide*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Schmidt, T. J., Rzeppa, S., Kaiser, M., & Brun, R. (2012). *Larrea tridentata* – Absolute configuration of its epoxy lignans and investigations on its antiprotozoal activity. *Phytochemistry Letters*, 5, 632-638. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2012.06.011>
- Skouta, R., Morán-Santibañez, K., Valenzuela, C. A., Vasquez, A. H., & Felon, K. (2018). Assessing the antioxidant properties of *Larrea tridentata* extract as a potential molecular therapy against oxidative stress. *Molecules*, 23, 1826. doi: [10.3390/molecules23071826](https://doi.org/10.3390/molecules23071826)
- Villalobos, V. M., García M., & Ávila, F. (2017). *El Agua para la Agricultura de las Américas*. IICA y Fundación COLPOS. San José, Costa Rica. ISBN: 978-92-9248-700-3. www.lica.int