

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS**



**Suplementación de virginiamicina en dietas de crecimiento-
finalización altas en aminoácidos para bovinos**

**TESIS
QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA:

MC. Juan Diego Navarrete Reyes

**Director de tesis
Dr. Martin Francisco Montaña Gómez**

**Co-Director de Tesis
Dr. Jaime Salinas Chavira**

MEXICALI, B.C. MÉXICO

FEBRERO DE 2017

La presente tesis “**suplementación de virginiamicina en dietas de crecimiento-finalización con diferente nivel de aminoácidos para bovinos**” realizada por el **C. Juan Diego Navarrete Reyes**, dirigido por los **Dres. Martín Francisco Montaña Gómez y Jaime Salinas Chavira**, ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias Agropecuarias

Comité particular

Dr. Martín Francisco Montaña Gómez
Director de tesis

Dr. Jaime Salinas Chavira
Co-Director de Tesis

Dr. Juan Octavio Chirino Romero
Sinodal

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez
Sinodal

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanos.

Por todo su gran amor y confianza depositada en mí, por su apoyo moral que me han proporcionado y por no haber dejado de preocuparse y ver por mi bienestar para poder alcanzar mis metas.

Por eso y muchas cosas más, ¡que Dios los bendiga!.

A mi director de tesis

Dr. Martín Francisco Montaña Gómez

Al Co-Director de tesis

Dr. Jaime Salinas Chavira

Por el apoyo y la confianza que me han otorgado para poder llevar a cabo la realización de la presente investigación. Y un especial agradecimiento al Dr. Francisco Martín Montaña Gómez por su apoyo incondicional y la confianza depositada en mí durante la realización del presente trabajo de investigación. Y por su gran amistad que me ha ofrecido durante mi estancia en esta institución.

A mis Asesores

Dr. Juan Octavio Chirino Romero

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra

Por el haber dedicado parte de su valioso tiempo en la revisión de mi investigación y por sus oportunos comentarios y correcciones, los cuales fueron fundamentales para el mejoramiento de esta investigación.

Al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, por permitirme formarme profesionalmente como Doctor en Ciencias Agropecuarias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado al aceptarme como becario, y así, poder realizar los estudios de Doctorado en Ciencias Agropecuarias en tiempo y forma.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Sr. Alejandro Navarrete Martínez

Sra. Eugenia Reyes López

Les dedico el presente trabajo de investigación de todo corazón por el apoyo incondicional y moral que a lo largo de mi vida me han brindado. Por la educación, amor, cariño y confianza que han depositado en mí durante mi formación académica, ya que sin su apoyo no podría lograr esta meta.

Por esto y muchas razones más, los amo por siempre.....GRACIAS.

A MIS HEMANOS:

Pedro †, Santos †, Griselda, María Guadalupe, Juan Erik y Avelina.

Por su gran amor, consejos y apoyo moral e incondicional que me han brindado durante mi vida. Han sido toda mi dedicación para poder lograr este triunfo.

Que Dios los bendiga.

Y a las personas que a lo largo de mi vida han decidido compartir parte de su valioso tiempo para brindarme su amistad, cariño, y confianza. En especial a Jaqueline Camacho Orozco que con su amistad y cariño incondicional me alienta a seguir avanzando cada día, ¡Gracias!

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos con la finalidad de evaluar la influencia de la nutrición proteica y la suplementación con virginiamicina sobre el rendimiento en el crecimiento y en la función digestiva en novillos Holstein. En el experimento 1 se utilizaron 120 terneros Holstein de (127 ± 9 kg) para evaluar la influencia de la nutrición proteica y la suplementación con virginiamicina sobre el rendimiento del crecimiento y la eficiencia energética. Durante el período inicial de alimentación de 112 d, una dieta a base de maíz roado al vapor se equilibró para satisfacer el 100% de los requerimientos de aminoácidos metabolizables (AAM) o el 87% (UREA). Las dietas se suplementaron con o sin 22.5 mg / kg de virginiamicina en un arreglo factorial 2×2 . Posteriormente (d 112 a d 308), todos los novillos recibieron la dieta UREA suplementada con o sin tratamiento de virginiamicina correspondiente. Durante el período inicial de 112 días, AAM aumentó la GDP (12.4%, $P < 0.01$), la eficiencia de ganancia (12.7%; $P < 0.01$) y la EN de la dieta (9%, $P < 0.01$) respecto a los novillos que recibieron la dieta UREA convencional. La EN dietética observada promedió 97.0 y 87.5% de lo esperado para las dietas AAM y UREA, respectivamente. Durante los siguientes 196 días del estudio, cuando todos los novillos recibieron la dieta UREA (d 112 a d 308), la suplementación de proteínas durante el período inicial no afectó ($P > 0.10$) GDP, la eficiencia de ganancia la EN dietética. En general (d1 a d 308), la formulación de la dieta para satisfacer los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante el período inicial de 112 días no afectó a GDP ($P > 0.10$). Sin embargo, los efectos del AAM durante el período inicial de 112 días aumentaron la eficiencia de ganancia total (308 d) (4.2%, $P = 0.03$) y EN dietética (4.3%, $P = 0.05$). Durante el período inicial de 112 días, la suplementación con virginiamicina tendió a incrementar la GDP (3.3%, $P = 0.08$), la eficiencia de ganancia (5.6%, $P < 0.01$) y la EN de la dieta (4.3%; $P < 0.01$). Durante el resto del experimento, y en general (d1 a d 308), el efecto de la virginiamicina en GDP no fue apreciable ($P > 0.10$). Sin embargo, la suplementación aumentó la eficiencia general de ganancia (4.2%; $P < 0.01$) y EN dietética (4.3%, $P < 0.01$). No hubo efectos de los tratamientos ($P > 0.10$) de suplementación AAM durante el período inicial de 112-d sobre

características de la canal. Mientras que la suplementación de virginiamicina tendió a aumentar el porcentaje de rendimiento de la canal (0.9%, $P = 0.09$). Se observó una interacción ($P=0.03$) entre AAM y virginiamicina sobre el porcentaje grasa renal, pélvica y cardíaca RPC, el cual fue mayor ($P < 0.05$) para AAM más virginiamicina, que para la urea más virginiamicina. En el experimento 2 se utilizaron 4 novillos Holstein (146 ± 4 kg) con cánulas en rumen y duodeno proximal en un diseño cuadrado latino 4×4 para evaluar los efectos iniciales del tratamiento de 112-d sobre la función digestiva. No hubo efectos del tratamiento ($P > 0.10$) sobre la digestión ruminal de MO, FDN y almidón, o eficiencia microbiana ruminal (g N microbiano / kg MO fermentada). Como era de esperar, el AAM aumentó ($P < 0.01$) el flujo de N amoniacal al intestino delgado y disminuyó ($P = 0.04$) el porcentaje de N del alimento degradado en el rumen. El flujo de aminoácidos indispensables al intestino delgado fue también mayor (41%, $P < 0.01$) para el AAM que para la UREA. El suministro de aminoácidos observado estuvo en concordancia con el esperado basado en NRC (2000, nivel 1, $\text{Observado} = 0.97 \text{ esperado} - 0.35$, $r^2 = 0.96$), apoyando la practicidad de ese enfoque en formulaciones de dieta para satisfacer requisitos de aminoácidos indispensables. La suplementación con virginiamicina disminuyó ligeramente (6.1%, $P = 0.04$) el flujo de N amoniacal hacia el intestino delgado, tendiendo (interacción, $P = 0.10$) a ser más evidente con la dieta AAM. No se observaron efectos del tratamiento ($P > 0.10$) sobre la digestión del tracto digestivo total de MO y FDN. La digestión total de N ($P < 0.01$) y almidón ($P = 0.04$) fue mayor para el AAM que para las dietas UREA. La suplementación con virginiamicina no afectó ($P > 0.10$) la digestión del tracto digestivo total de N o el almidón. No hubo efecto de los tratamientos sobre el pH ruminal, las proporciones molares de acetato, propionato y butirato ni la producción estimada de metano. En comparación con la UREA, el AAM aumentó las proporciones molares del isobutirato de VFA de cadena ramificada (54%, $P = 0.05$) e isovalerato (136%, $P < 0.01$). Extrapolando valores de los suministros de aminoácidos en el estudio del metabolismo, la formulación AAM fue exitosa en el cumplimiento de todos los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante el período inicial de 112 d. Mientras que con

la dieta UREA convencional se encontraron 73.5 y 79.2% de los requerimientos de metionina y lisina, respectivamente. Durante los periodos posteriores (d 112 a d 308), cuando todos los novillos recibieron la misma dieta basada en urea, los suministros extrapolados de todos los aminoácidos metabolizables excedieron los requerimientos teóricos. Concluimos que el suministro de aminoácidos observado al intestino delgado es una función predecible de la formulación de la dieta, que apoya a NRC (2000, Nivel 1). La mejora en la eficiencia de la utilización de energía dietética cuando las dietas están equilibradas para satisfacer los requerimientos de aminoácidos metabolizables de los novillos Holstein alimentados durante el período de confinamiento inicial de 112 d permanece apreciable en el momento del sacrificio. La suplementación con virginiamicina de las dietas de crecimiento-acabado a base de maíz roado al vapor aumenta uniformemente la eficiencia de la utilización de energía a lo largo del período de engorda corral.

Palabras clave: Holstein, Corral de engorda, Proteína, Virginiamicina, Rendimiento, Digestión

ABSTRACT

Two experiments were conducted to examine the influence of protein nutrition and virginiamycin supplementation on feedlot growth-performance and digestive function of calf-fed Holstein steer. In experiment 1, 120 Holstein steer calves (127 ± 9 kg) were utilized to evaluate the influence of protein nutrition and virginiamycin supplementation on growth performance, and dietary energetics. During the initial 112-d feeding period, a steam-flaked corn-based diet was balanced to meet either 100% of metabolizable amino acid requirements (**MAB**) or 87% (**UREA**). Diets were supplemented with or without 22.5 mg/kg virginiamycin in a 2×2 factorial arrangement. Subsequently (d 112 to d 308), all steers received the UREA diet supplemented with or without corresponding virginiamycin treatment. During the initial 112-d period **MAB** increased ADG (12.4%, $P < 0.01$), gain efficiency (12.7%, $P < 0.01$), and dietary NE (9%, $P < 0.01$) over that of steers receiving the conventional UREA diet. Observed dietary NE averaged 97.0 and 87.5% of expected for the MAB and UREA diets, respectively. During the subsequent 196 days of the study when all steers received the UREA diet (d 112 to d 308), protein supplementation during the initial period not affect ($P > 0.10$) ADG, gain efficiency and dietary NE. Overall (d1 to d 308), diet formulation to meet metabolizable amino acid requirements during the initial 112-d period did not affect ADG ($P > 0.10$). However, effects of MAB during the initial 112-d period increased overall (308-d) gain efficiency (4.2%, $P = 0.03$), and dietary NE (4.3%, $P = 0.05$). During the initial 112-d period, virginiamycin supplementation tended to increase ADG (3.3%, $P = 0.08$), and increased gain efficiency (5.6%, $P < 0.01$) and dietary NE (4.3%, $P < 0.01$). During the remainder of the experiment, and overall (d1 to d 308), the effect of virginiamycin on ADG was not appreciable ($P > 0.10$). However, supplementation increased overall gain efficiency (4.2%, $P < 0.01$) and dietary NE (4.3%; $P < 0.01$). There were no treatment effects ($P > 0.01$) of MAA supplementation during the initial 112-d period on carcass characteristic. While virginiamycin supplementation tended to increase the percentage carcass yield

(0.9%, $P=0.09$). An interaction ($P=0.03$) was observed between MAA and virginiamycin on the RPC percentage, which was higher ($P<0.05$) for MAA plus virginiamycin, than for urea plus virginiamycin. In experiment 2, 4 Holstein steers (146 ± 4 kg) with cannulas in rumen and proximal duodenum were used in a 4×4 Latin square design to evaluate initial 112-d treatment effects on digestive function. There were no treatment effects ($P > 0.10$) on ruminal digestion of OM, NDF, and starch, or ruminal microbial efficiency (g microbial N/kg OM fermented). As expected, MAB increased ($P < 0.01$) non-ammonia N flow the small intestine, and decreased ($P = 0.04$) percentage of feed N degraded in the rumen. Flow of indispensable amino acids to the small intestine was also greater (41%, $P < 0.01$) for MAB than for UREA. Observed amino acid supply was in good agreement with expected based on NRC (2000, level 1; Observed = $0.97 \text{ Expected} - 0.35$, $r^2 = 0.96$), supportive of the practicality of that approach in diet formulations to meet indispensable amino requirements. Virginiamycin supplementation slightly decreased (6.1%, $P = 0.04$) non-ammonia N flow to the small intestine, tending (interaction, $P = 0.10$) to be more apparent with the MAB diet. There were no treatment effects ($P > 0.10$) on total tract digestion of OM and NDF. Total tract digestion of N ($P < 0.01$) and starch ($P = 0.04$) were greater for MAB than UREA diets. Virginiamycin supplementation did not affect ($P > 0.10$) total tract digestion of N or starch. There were no treatment effects on ruminal pH, molar proportions of acetate, propionate, and butyrate, and estimated methane production. Compared with UREA, MAB increased molar proportions of the branched chain VFA isobutyrate (54%, $P = 0.05$) and isovalerate (136%, $P < 0.01$). Extrapolating from amino acid supplies in the metabolism study, MAB formulation was successful in meeting all metabolizable amino requirements during the initial 112-d period. Whereas, with the conventional UREA diet met 73.5 and 79.2% of the methionine and lysine requirements, respectively. During the subsequent periods (d 112 to d 308), when all steers received the same urea-based diet, extrapolated supplies of all metabolizable amino acids exceeded theoretical requirements. We conclude that observed amino acid supply to the small intestine is a predictable function of diet formulation, supportive of NRC (2000, Level 1). Enhancement in efficiency of

dietary energy utilization when diets are balanced to meet metabolizable amino acid requirements of calf-fed Holstein steers during the initial 112-d feedlot period remain appreciable at time of harvest. Virginiamycin supplementation of steam-flaked corn-based growing finishing diets uniformly enhances efficiency of energy utilization throughout the feedlot growing-finishing period.

Key words: Holstein, feedlot, protein, virginiamycin, performance, digestion

CONTENIDO

	Pagina
Agradecimientos.....	ii
Dedicatorias.....	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	viii
Introducción.....	1
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis.....	5
Revisión de literatura.....	6
Ergotrópicos (promotores del crecimiento).....	6
Clasificación general.....	6
Generalidades.....	7
Antimicrobianos.....	7
Virginiamicina.....	8
Pruebas de comportamiento productivo.....	10
Características de la canal.....	14
Pruebas de metabolismo digestivo.....	16
Materiales y Métodos.....	23
Ubicación.....	23
Prueba 1. Comportamiento productivo.....	23
Prueba 2. Metabolismo digestivo.....	26
Resultados y discusión.....	30
Prueba 1.....	30
Prueba 2.....	34
Implicaciones.....	42
Literatura Citada.....	43
Anexos.....	50

INDICE DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1. Composición de las dietas experimentales.....	27
Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre comportamiento productivo de novillos Holstein.....	32
Tabla 3. Efecto de tratamiento sobre las características de la canal de novillos Holstein.....	35
Tabla 4. Efectos de tratamiento sobre las características digestivas de rumen y tracto total.....	36
Tabla 5. Esperado vs observada de la suplementación de aminoácidos indispensables para el intestino delgado de novillos Holstein.....	37
Tabla 6. Efecto de tratamiento sobre el pH ruminal, proporción molar de AGV y estimación de la producción de metano.....	38
Tabla 7. Suministro extrapolado de los aminoácidos metabolizables indispensables al intestino delgado de los novillos en el experimento 1 en comparación con los requerimientos (NRC, 2000 Nivel 1).....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pagina
Fig. 1. La estructura química y la numeración de virginiamicina M1.....	10
Fig. 2. Efecto de tratamiento sobre la temperatura ruminal.....	39

INTRODUCCIÓN

El rumen es un ecosistema microbiano complejo que se compone de una inmensa variedad de bacterias, protozoos, hongos y virus (Church, 1993). Bergen y Bates (1984) señalan que en rumiantes alimentados con alta proporción de carbohidratos rápidamente fermentables, los ionóforos deprimen el consumo de alimento, pero no modifican la ganancia de peso, lo cual implica una mejor conversión alimentaria; además, cuando los rumiantes reciben dietas con elevada cantidad de forrajes, los ionóforos no deprimen el consumo y mejoran la ganancia de peso. Estos autores afirman que los ionóforos mejoran la eficiencia productiva de bovinos en finalización, debido a que inducen un metabolismo energético y nitrogenado más eficiente, disminuyendo al mismo tiempo los desórdenes metabólicos, especialmente la acidosis láctica crónica y el timpanismo.

La amplia aceptación del lasalocida y monensina en la industria ganadera ha motivado la investigación de nuevos compuestos tales como avoparcina (Dyer et al., 1980), laidlomycin (Spires y Algeo, 1983), lisocelina (Preston et al., 1985), narasina (Potter et al., 1979), salinomycin (Merchen y Bergen, 1985), Thiopeptin (Gill et al., 1979), y virginiamycin (Demeyer y Van Nevel, 1985). Acorde con Bergen y Bates (1984), narasina y salinomycin han demostrado ser eficaces en la mejora de la eficiencia alimenticia a una dosis más pequeña que lasalocida o monensina. Los cambios metabólicos ruminales inducidos por muchos de estos compuestos antimicrobianos han demostrado ser similares a las inducidas por lasalocida y monensina (Gill et al., 1979; Froetschel et al., 1983; Spires y Algeo, 1983; Demeyer y Van Nevel, 1985; Merchen y Berger, 1985).

Virginiamycin es un antimicrobiano derivado de *Streptomyces virginiae* que inhibe el crecimiento de bacterias gram-positivas (Cocito, 1979). En un resumen de 7 estudios de dosis-respuesta con ganado de engorde (Rogers et al., 1995), se observó que la suplementación de la dieta con 19 a 27 mg de virginiamycin/kg (base seca) mejoró GDP (4.6%) eficiencia de ganancia (3.6%), reduciendo en un

38% la incidencia de absceso hepático. La base para la mejora del rendimiento en la etapa de crecimiento es incierta. La virginiamicina inhibe el crecimiento de bacterias productoras de ácido láctico ruminal, lo que limita la acumulación de lactato ruminal (Hedde et al., 1980; Nagaraja et al., 1987; Hynes et al., 1997; Clayton et al., 1999; Coe et al., 1999). Por lo tanto, la virginiamicina podría reducir el riesgo de acidosis láctica ruminal y disfunciones digestivas asociadas tras la sobrecarga de hidratos de carbono de fermentación rápida. Al mismo tiempo, virginiamicina podría también aumentar la absorción de nutrientes a nivel posruminal (Owens et al., 1998).

En el suroeste de Estados Unidos y en el norte de México, los novillos Holstein son alimentados con dietas a base de maíz roado al vapor que contienen 12 a 13% de proteína cruda, en algunos casos con urea como única fuente de N suplementario (Zinn et al., 2005; Vasconcelos y Galyean, 2007). En teoría, estas dietas satisfacen los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante la fase general de engorda en corral (de 300 a 350 días; NRC, 2000), pero no cumplen con los requisitos durante las primeras etapas de crecimiento (primeros 112-140 días; Zinn y Shen, 1998; Zinn et al., 2007). Las deficiencias de aminoácidos esenciales durante las primeras etapas de crecimiento influyen negativamente en la ganancia media diaria (GMD) y eficiencia de ganancia, dando como resultado pérdidas económicas (Hussein y Berger, 1995; Wessels et al., 1997; Zinn et al., 2007). La investigación sobre la estimación de los requerimientos de aminoácidos y la retención de nitrógeno en ganado en crecimiento ha demostrado que metionina y lisina son los primeros aminoácidos limitantes (Hussein y Berger, 1995; Zinn et al., 2007). Las dietas pueden ser equilibradas para satisfacer los requerimientos de aminoácidos mediante la adición de suplementos de proteína de sobrepaso que son ricos en metionina y lisina (Zinn y Shen, 1998; Zinn et al., 2007) o directamente con la suplementación de aminoácidos que están protegidos en el rumen (Sindt et al., 1993). Hay muy poca información acerca de la influencia de la suplementación de la virginiamicina en novillos Holstein alimentados en corral, proceso que considera períodos de alimentación muy prolongados. En un estudio preliminar, Salinas-Chavira et al.,

(2009), observaron que la suplementación virginiamicina a 340 días puede mejorar la eficiencia de ganancia y la eficiencia de utilización de la energía en novillos Holstein engordados en corral alimentados con dieta a base de maíz roado al vapor. El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de la suplementación de virginiamicina en la alimentación de novillos Holstein, y la influencia de equilibrar la formulación de dietas para satisfacer los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante la etapa inicial 112 días, la eficiencia de utilización de la energía y las características de digestión.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inclusión de virginiamicina y nivel de aminoácidos en dietas de crecimiento-finalización para bovinos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de los tratamientos sobre comportamiento productivo.

Evaluar el efecto de los tratamientos sobre la función ruminal y tracto total.

HIPÓTESIS

La incorporación de virginiamicina y el nivel de aminoácidos en dietas para bovinos en finalización puede influir sobre la función digestiva y el comportamiento productivo en dietas de crecimiento-finalización.

REVISIÓN DE LITERATURA

Ergotrópicos (promotores del crecimiento)

Un aditivo alimentario es un compuesto que se añade al alimento para modificar alguna característica de este y que no necesariamente aporta un nutrimento, promueven el crecimiento y producción, mejoran la eficiencia de la utilización del alimento, y en general los que mejoran el estado de salud del animal. Mientras que un ergótropico o promotor del crecimiento se define como cualquier elemento que al ser incorporado en pequeñas concentraciones (sin variar considerablemente su composición) logran acelerar el crecimiento del animal, lo que se refleja en un aumento de su peso y talla, con lo cual este requiere menos tiempo y comida para alcanzar el peso necesario para su sacrificio (Sumano y Ocampo 2006).

Clasificación general

Sumano y Ocampo (2006), mencionan que las sustancias que se usan como ergótropicos corresponden a una de las siguientes categorías generales:

- a). Antimicrobianos
- b). Isoácidos
- c). Aminoácidos
- d). Derivados benzodiazepínicos y triazolbenzodiazepínicos
- e). Microorganismos ruminales
- f). Enzimas
- g). Ácidos orgánicos

- h). Esteroides naturales
- i). Esteroides sintéticos
- j). Agonistas adrenérgicos beta
- k). Somatotropina bovina
- l). Probióticos

Generalidades

Conforme a su mecanismo de acción, los promotores del crecimiento actúan incrementando la cantidad y calidad de los nutrimentos disponibles para los tejidos, promoviendo la eficacia con que los nutrimentos se incorporan al proceso de crecimiento y producción del animal. Se ha postulado que existen factores determinantes que influyen en la respuesta de los animales a los promotores del crecimiento, entre los que se encuentran: edad y procedencia de los animales, estrés, calidad de los alimentos administrados y el tiempo de uso. Así mismo, existen condiciones de uso que debe cumplir un ergotrópico para su uso en la industria animal, las cuales son: uso específico para la alimentación animal, poder anabólico a dosis nutricias, ausencia de efectos teratógenos, cancerígenos, embriotóxicos, antigénicos, alergénicos y cualquier otro que ponga en riesgo la salud del ser humano o del animal, protección de la flora normal, eliminación rápida sin residuos en tejidos, nulo o bajo impacto ambiental, ausencia de generación de metabolitos dañinos, no poseer resistencia cruzada con otras sustancias de actividad antimicrobiana, estabilidad durante tiempos prolongados y compatibilidad con los ingredientes de las raciones (Sumano y Ocampo, 2006).

Antimicrobianos

El uso de antiinfecciosos no está limitado a la era actual, hace más de 2000 años los chinos, y posteriormente los médicos de la antigua Grecia utilizaban sustancias con potencial antiinfecciosos con fines médicos. A comienzos del siglo

XX se sentaron las primeras bases de la quimioterapia con el descubrimiento de los derivados arsenicales en el tratamiento de la sífilis, pero no comenzó realmente hasta el descubrimiento y uso clínico de las sulfamidas en 1936 seguido, en la década de los años 40, de la penicilina y estreptomicina. En la actualidad el arsenal terapéutico disponible es muy amplio, por ello deben sentarse las normas de selección y control de la terapia antimicrobiana para evitar que se utilicen mal estos agentes (García-Rodríguez y Picazo, 1998).

Los antimicrobianos no son productos de consumo; por ello, se deben tener en cuenta las siguientes premisas en la elección del antimicrobiano, hay que ser tan específicos como sea posible. Cuanto más antimicrobiano se utilicen, mayor será el riesgo de reacciones adversas, hipersensibilidad o sobreinfecciones (Medina, 2000). La cantidad de droga que debe de ser administrada depende de muchos factores, entre los que se incluyen la vía de administración, la distribución de la droga en el organismo, la forma de eliminación y la susceptibilidad a los antimicrobianos (Ingraham e Ingraham, 1998).

Virginiamicina

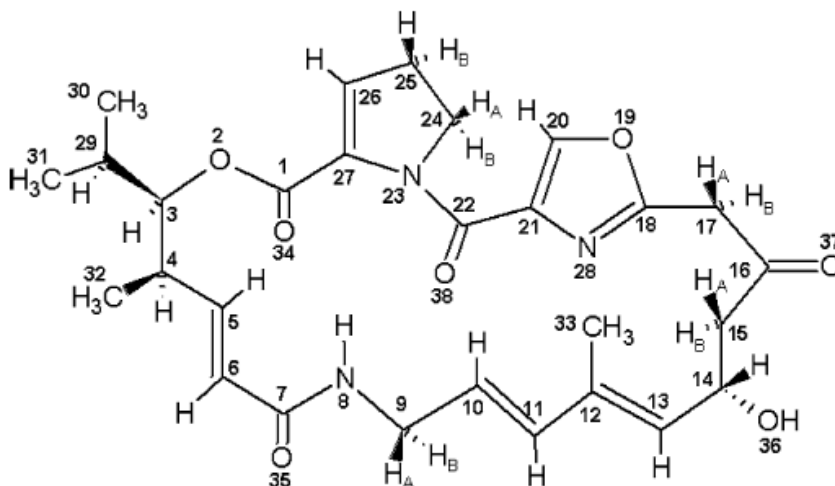
Es producto de la fermentación de *Streptomyces virginiae* y se compone de dos factores principales (M1 y S1), que funcionan de forma sinérgica (Boon y Dewart, 1974) cuando esta combinado en una relación óptima de 4:1 (M:S). Virginiamicina es un antibiótico activo frente a bacterias gram-positivas en el intestino (De Somer y Van Dick, 1955).

Los antibióticos estreptograminas, producidos por varias especies de *Streptomyces*, constan de dos componentes, el macrolactona virginiamicina M1 (VM1) se muestra en la Fig. 1 y una especie dependiente de péptido componente hexadepsipeptido b, virginiamicina S1 (VS1). VM1 y VS1 eliminan cepas bacterianas susceptibles mediante la inhibición de su síntesis de proteína (Crooy y De Neys 1972; Paris et al., 1990; Bonfiglio y Furneri, 2003). Los dos componentes se unen sinérgicamente a sitios específicos en el 23S rRNA de la 50S ribosoma,

induciendo con ello un cambio ribosomal conformacional que interfiere fuertemente con su actividad peptidil transferasa (Paris et al., 1990; Bonfiglio y Furneri, 2003; Porse y Garrett, 1999; Hansen et al., 2003). Un estudio cristalográfico de rayos X reciente claramente muestra la conformación de VM1 obligado a los ribosoma 50S pero la ubicación y conformación de la componente B con destino, VS1, no está bien resuelto (Hansen et al., 2003). A principios estudios cristalográficos de rayos X de VM1 unido al sitio activo de una estreptogramina acetiltransferasa, una enzima que se encuentra en algunas cepas de bacterias resistentes, mostró una conformación esencialmente idéntica a la de VM1 unido al 50S ribosoma (Sugantino y Roderick, 2002).

El antibiótico virginiamicina M_1 ($VM_{1,1}$) es un miembro de la familia de antibióticos de virginiamicina. Esta familia consiste en antibióticos que normalmente están aislados como mezclas de compuestos sinérgicos (Crooy y de Neys, 1972; Cocito, 1979). La nomenclatura en esta área es confusa, ya que los antibióticos similares o idénticos fueron aislados de diferentes organismos y fueron nombrados para el organismo antes de que sus estructuras (y por lo tanto su relación con antibióticos similares) fueran conocidos. Los antibióticos por lo tanto han sido nombrados como mikamicinas, vernamicinas, pristanamicinas, estreptograminas, ostreogricinas y virginiamicinas; Virginiamicina M_1 , por ejemplo, es idéntica con ostreogricina A, pristinamicina IIA, estreptogramina A, PA 114A1, vernamicina A, y micamicina A (Crooy y de Neys, 1972). El nombre de la virginiamicina se ha asignado a la clase por una revisión seria (Cocito, 1979). Virginiamicina M_1 fue aislado de *Streptomyces virginiae* en 1955 y nombrado como el número de antibióticos 899 (De Somer y Van Dijck, 1955).

Fig. 1 La estructura química y la numeración de virginiamicina M1 (VM1)



Pruebas de comportamiento productivo con dietas suplementadas con virginiamicina

Salinas et al. (2009) en un estudio realizado con 144 becerros Holstein (119 kg peso vivo inicial) con una duración de 340 días, incluyeron en la dieta virginiamicina a niveles de 0, 16, 22.5 y 28 mg/kg BMS. Los novillos recibieron una dieta a base de maíz rolando a vapor en los primeros 112 días y posteriormente fueron alimentados con una dieta de finalización hasta su sacrificio. Los novillos fueron divididos en dos grupos en base a su peso vivo (mitad livianos y mitad pesados). En dicho estudio no se observó interacción entre dietas y tratamientos ($P=0.30$). Así mismo, no se observaron efectos significativos ($P = 0.20$) sobre la GDP o CMS. Sin embargo, virginiamicina incrementó (componente lineal; $P = 0.02$) la eficiencia de la dieta G:C. Numéricamente el incremento en G:C fue de 2.3 y 4.0% para los niveles de suplementación de 16 y 22.5 mg/kg de virginiamicina, respectivamente. Consistente con el incremento observado en G:C, la suplementación de virginiamicina incrementó en forma lineal ($P = 0.04$) la ENm y la ENg dietaria estimada. Así mismo, observaron una evidente mejora en la es EN

estimada de la dieta durante la segunda fase de engorda de 112 días fueron aparentemente mejor (efecto lineal; $P=0.06$), y para el último periodo de finalización de 115 d se observó un efecto lineal ($P=0.04$). Las etapas finales comprendieron los meses calientes de verano, de junio a septiembre, con temperaturas promedio de 40°C y un 67% de humedad promedio. La suplementación con virginiamicina a nivel de 22.5 mg/kg durante el total de la prueba (340 días) incrementó la ENm y la ENg dietaria estimada en 3.8 y 4.9%, respectivamente.

Por otra parte, se llevaron a cabo siete experimentos clínicos de campo donde los tratamientos fueron equilibrados para el tipo de raza, sexo y el origen del ganado. En los experimentos 1, 2, y 3 se midieron dosis de alcance; mientras que 4, 5, 6, y 7 se realizaron para definir más completamente la dosis-respuesta. En los experimentos 4 y 5 se utilizaron novillos y vaquillas para determinar respuesta en base al sexo a Virginiamicina. En los experimentos 2 y 3 los novillos fueron implantados con 200mg de progesterona y 20 mg de benzoato de estradiol en la forma de Synovex-S @ (Syntex Sanidad Animal, West Des Moines, IA). Los tratamientos fueron: Exp. 1) VM (0, 10, 25, y 50 mg/kg)/245-d; Exp. 2) VM 7.5, 10, y 15 mg/kg (extremo inferior del rango de dosificación potencial); Exp. 3) VM 11, 19.3, y 27.6 mg/kg (niveles intermedios a los utilizados experimento 1 o 2); Exp. 4, 5, 6, y 7 se proporcionó VM en 11.0, 19.3, y 27.6mg/kg. Dietas de finalización para becerros y vaquillas con niveles de contenido energético de 1.34 a 1.51 Mcal de NE g/kg de MS. Los resultados del experimento 1 indicaron que la suplementación de VM a un nivel de 50 mg/kg disminuyó ($P<0.05$) el CMS. Los valores de ganancia media diaria y C/G fueron similares para los animales alimentados con 25 mg/kg o 50 mg/kg ($P<0.01$). Los resultados de los experimentos 2 y 3 muestran efecto lineal positivo en GDP ($P<0.08$ y $P<0.05$) y para C/G ($P<0.11$ y $P<0.01$), sin efecto sobre la CMS en respuesta a las dosis en el rango de 7.5 a 27.6 mg/kg respectivamente. No se observó interacción tratamiento x sexo en los análisis individuales o combinados en los experimentos 4 o 5, mientras que un efecto lineal sobre GDP fue observada en respuesta a los tratamientos en las pruebas 4 ($P<0.01$) y 5 ($P<0.09$). Al mismo tiempo, la eficiencia

alimenticia en los experimentos 4 y 5 mejoró linealmente ($P<0.01$) al aumentar el nivel de VM en la dieta. En el experimento 2 se observó un efecto lineal ($P<0.09$) en las GDP, mismas que se determinaron tanto en vivo como en canal, sin embargo, GDP en vivo fue consistentemente mayor que GDP en canal. El experimento 7 mostró una respuesta lineal ($P<0.01$) de C/G en respuesta a VM. El consumo de MS no se vio afectada significativamente por el nivel de VM; sin embargo los tratamientos (11.0 y 19.3 mg/kg) fue numéricamente inferior al control y 27.6mg/kg. Respecto a la energía, el valor más alto se observó en el experimento 6, el cual contempló una ENg de 1.51 Mcal/kg, la mayor respuesta (8.4%) se observó en el experimento 4, cuyo valor de de ENg fue de 1.45 Mcal/kg. En los experimentos 3 y 5, en los que los animales tuvieron la ENg calculada más baja (1.34 Mcal/kg), se observaron valores de 4.6 y 2.9%, respectivamente, mientras que en los experimentos 2 y 7, los valores de C/G fueron de 6.9 y 2.2%, respectivamente, aunque la ENg calculada fue la misma (1.44 Mcal/kg). Así mismo, se observa en los datos del estudio individual que la tendencia general fue un CMS ligeramente inferior para ganado alimentado ya sea 11.0 o 19.3 mg/kg que en ganado alimentado 0 o 27.6 mg/kg de VM. La GDP acumulativa y en general aumentó linealmente ($P<0.05$) en respuesta a VM durante todo el período de alimentación. Del mismo modo, C/G mejoró linealmente ($P<0.04$) en respuesta a VM. Los datos de los estudios iniciales de dosis-respuesta también indicaron que VM reduce la incidencia y la gravedad de abscesos hepáticos (AH) en ganado de engorda. En el experimento 1, la incidencia global de AH fue de 13.1, 8.1, 6.1, y 3.0% en los animales suplementados con VM a dosis de 0, 10, 25, y 50 mg/kg, respectivamente. En el experimento 2 solo se observó AH en cuatro novillos. Así mismo, en el experimento 3, la incidencia de AH fue 60.0, 45.7, 54.3 y 44.3% en respuesta a VM a dosis de 0, 11, 19.3 y 27.6 mg respectivamente. Un análisis combinado de los experimentos 4 y 5 indica que la interacción tratamiento x sexo no fue significativa. Los resultados de estos análisis combinados (Exp. 4, 5, 6, y 7) indicaron una reducción global ($P<0.003$) en la incidencia AH. El modelo lineal planteado indicó que Modelo 111-1 describe mejor ($R^2=0.99$) la incidencia de los datos de AH. Este modelo tiene un umbral inicial a través de la dosis de 11.0mg/kg

seguido de una sola línea inclinada, se cruzan una meseta en el nivel de 19.3mg/kg. El uso de la no superposición de los intervalos de confianza y los modelos lineales indican un intervalo de dosificación eficaz de 16.5 a 19.3 mg/kg para reducir la incidencia AH (Rogers et al., 1995).

Smith et al. (1989), al trabajar una prueba con trescientos veinte novillos sin implantes anabólicos, sometidos a los siguientes tratamientos con virginiamicina (Stafac 10) 0, 10, 17.5, 25 g/ton, no encontraron diferencia significativa en la ganancia diaria y consumo de alimento. Sin embargo, observaron un efecto lineal ($P < 0.01$) en la eficiencia alimenticia conforme se incrementaba el nivel de virginiamicina. La inclusión de virginiamicina a 25 g/ton mejoró la eficiencia alimenticia (2.6%; $P < 0.05$) en comparación con el grupo control o grupo uno con 10 g/ton de inclusión.

En otro estudio donde se pusieron a prueba los efectos de la suplantación con antibióticos (virginiamicina y monensina) en ganado Holstein, Montaña et al, (2014), no encontraron efectos del tratamiento ($P > 0.20$) sobre el CMS, pero observaron que tendió a incrementar GDP (7%; $P = 0.07$), eficiencia de ganancia (11%; $P < 0.01$), ENm dietética estimada (9%; $P < 0.01$) y ENg (11%; $P < 0.01$).

Zinn et al. (2007), realizaron un estudio donde utilizaron 108 novillos Holstein de (114 ± 8 kg) para evaluar los efectos de los aminoácidos metabolizables (AAM) sobre el rendimiento de crecimiento y las características de la canal. Evaluaron tres estrategias de alimentación: 1) control, alimentación monofásica (los novillos fueron alimentados con una sola dieta basada en la urea que cumplía con los requerimientos promedio de AAM para el período de alimentación general); 2) Alimentación en dos fases (a los novillos se les dio una dieta formulada para cumplir con los requerimientos promedio de AAM para los primeros 112 días en dieta y luego terminaron con la dieta control basada en urea); y 3) alimentación en 3 fases (2 dietas fueron formuladas para cumplir con los requerimientos promedio de AAM durante los primeros y segundos periodos de alimentación de 56 d, y posteriormente se terminó el ganado en la dieta control basada en urea). La alimentación en dos fases y las estrategias de manejo de

alimentación trifásica produjeron resultados de crecimiento similares ($P > 0.20$). Mientras que la alimentación en fase múltiple aumentó la ADG (18%; $P < 0.01$), CMS (4%; $P < 0.05$) y la EN dietética observada en la dieta (16%, $P < 0.01$) durante los primeros 112 días del estudio. De inicio al sacrificio, todos los novillos recibieron la misma dieta. No hubo efectos del tratamiento ($P > 0.20$) sobre el rendimiento del crecimiento, sin embargo, la alimentación multifásica aumentó la GDP general (351 d) (6.3%; $P < 0.01$), CMS (3.7%; $P < 0.10$), la eficiencia de ganancia (2.8%; $P < 0.01$) y EN dietética observada (3.4%; $P < 0.01$).

Características de la canal

En un estudio con trescientos veinte novillos sin implantar que fueron sometidos a los siguientes tratamientos con virginiamicina (Stafac 10) 0, 10, 17.5, 25 g/ton, se observó que con 10 g/ton se obtuvo mayor valor numérico ($P < 0.05$) que el grupo control, mientras que los porcentajes de grado de rendimiento para cuatro canales que recibieron virginiamicina fueron mayores que el control ($P < 0.05$). La incidencia de abscesos hepáticos tendió a decrecer de 9 a 15% cuando se utilizó virginiamicina, sin embargo, esta reducción no fue estadísticamente significativa (Smith et al., 1989).

Rogers et al. (1995), al utilizar niveles de 0, 10, 11, 19.3, 25, 27.6 y 50 mg/kg de virginiamicina, observaron que la GDP acumulativa y general aumentó linealmente ($P < 0.05$) en respuesta a la inclusión de VM durante todo el período de alimentación. Al mismo tiempo, observaron que el ganado que recibió 27.6 mg/kg de VM presentó un crecimiento de 4.4% más rápido que el grupo control. Del mismo modo, C/G mejoró linealmente ($P < 0.01$) en respuesta a VM; al tiempo que los animales que recibieron las dos concentraciones más altas de VM promediaron una mejora de 3.79% en la C/G, la GDP ajustada a la canal exhibió un patrón similar de respuesta, calculado sobre una base de peso vivo. Estos resultados apoyan la sugerencia de que la mejora en el aumento de peso observado con VM en estos estudios refleja un cierto aumento en la masa de la

canal, no sólo cambia en la masa del tracto digestivo o de su contenido. Por otra parte, respecto a las características de la canal consideradas en su estudio Salinas et al. (2009) no encontraron efectos significativos ($P > 0.20$) por tratamiento de dieta para peso de la canal caliente, espesor de la grasa en RPC (riñón, pelvis y corazón), grado de calidad de la canal ni rendimiento de la canal. Sin embargo virginiamicina tendió a incrementar linealmente ($P = 0.15$) el área del musculo *longissimus* (ML). Con respecto a peso vivo inicial de grupos, el grupo de novillos pesados tuvo mayor peso de canal caliente (3.7%; $P = 0.02$) y respecto al área del ML (5.5%; $P = 0.01$) que grupo de novillos ligeros.

Mientras que Zinn et al. (2007), en su estudio con novillos Holstein donde evaluaron los efectos de los aminoácidos metabolizables (AAM) sobre el rendimiento de crecimiento y las características de la canal. Evaluaron tres estrategias de alimentación: 1) control, alimentación monofásica (los novillos fueron alimentados con una sola dieta basada en la urea que cumplía con los requerimientos promedio de AAM para el período de alimentación general); 2) Alimentación en dos fases (a los novillos se les dio una dieta formulada para cumplir con los requerimientos promedio de AAM para los primeros 112 días en dieta y luego terminaron con la dieta control basada en urea); y 3) alimentación en 3 fases (2 dietas fueron formuladas para cumplir con los requerimientos promedio de AAM durante los primeros y segundos periodos de alimentación de 56 d, y posteriormente se terminó el ganado en la dieta control basada en urea). No observaron efectos ($P > 0.20$) de estrategias de alimentación de 3 fases frente a 2 fases sobre las características de la canal. La alimentación en múltiples fases aumentó el peso de la canal caliente (5.2%; $P < 0.01$), el porcentaje de grasa (1.0%; $P < 0.10$), el grosor de la grasa (25%; $P < 0.05$) y el área ML (8.8%; $P < 0.05$), tampoco hubo efectos del tratamiento ($P = 0.81$) sobre la puntuación de marmoleo o calidad de la carne. Estos mismos autores mencionan que basados en el enfoque NRC (Nivel 1), el programa de alimentación monofásica fue deficiente en Met, Lys y His metabolizables durante los 112 días iniciales del período de alimentación, proporcionando 71.4, 73.0 y 67.6% durante el primer período de 56 días, y 85.8, 87.9 y 81.1% de las necesidades respectivas durante

el segundo período de 56 días. Así, la ENg dietética observada fue similar (96%) a la esperada para los programas de 2 y 3 fases durante los primeros 112 d, pero fue sólo el 83% de lo esperado para el programa monofásico, concluyendo que se necesitaba un programa de alimentación en dos fases para mejorar el GDP general, G:C y la eficiencia energética de los novillos Holstein alimentados en corral (en el corral de engorda como terneros ligeros) en comparación con un sistema monofásico convencional. Como mínimo, un sistema de dos fases tendría que considerar por separado los requerimientos de MAA desde la colocación del corral hasta los 280 kg de peso corporal (fase 1) y de 280 kg de peso corporal al sacrificio (fase 2). Mencionan que metionina, lisina e histidina parecen ser los primeros aminoácidos limitantes durante la primera fase de alimentación. Durante la segunda fase (280 kg hasta el sacrificio), el suministro de todos los AAM excederá los requerimientos, incluso cuando la urea sea la única fuente de suplemento de N, y que maximizar la tasa de crecimiento durante la primera fase de alimentación puede mejorar el porcentaje de vestimenta y el área de LM.

Por otra parte, Montano et al. (2014), observaron que la suplementación con antibióticos virginamicina y monensina en novillos Holstein aumentó el peso de la canal (3%; $P=0.05$). Los efectos de monensina y virginiamicina sobre el peso de la canal fueron similares ($P=0.91$). Pero no se observaron efectos de tratamiento ($P > 0.10$) sobre rendimiento de la canal, RPC, espesor de grasa, área ML, puntaje de marmoleo y rendimiento. Sin embargo, el grado de marmoleo fue mayor (12%; $P=0.04$) para virginiamicina que para el monensina.

Pruebas de metabolismo digestivo

En una prueba de metabolismo donde se utilizaron novillos de la raza Holstein (269 Kg) canulados de rumen y duodeno proximal, bajo un Diseño Cuadrado Latino 4 x 4 se probaron cuatro tratamientos: 1) Sin antibiótico (control); 2) 16 mg/kg de virginiamicina (V-Max, Phibro Animal Health, Ridgefield Park, NJ); 3) 22.5 mg/kg de virginiamicina y 4) 28 mg/kg de monensina (Elanco Animal

Health, Greenfield, IN). No se observaron efectos significativos ($P>0.20$) sobre la digestión ruminal de MO, FDN, almidón, N del alimento, ni eficiencia. Igualmente, la suplementación de virginiamicina no afectó la digestión postruminal o de tracto total de MO, almidón, FDN ni N. De igual manera, no se observó efecto de los tratamientos ($P>0.20$) sobre pH ruminal ni concentración de ácido láctico ruminal, cuyos valores fueron de sólo 14.9 mg/dL. Variación en pH ruminal ($CV=7.9$) fue asociado con ácidos orgánicos ruminales (mM): $pH=7.61-0.0146\times\text{ácidos orgánicos, mM}$ ($r^2=0.76$; $P<0.001$). No hubo efecto entre tratamientos ($P=0.62$) en concentración molar de AGV en rumen (Salinas et al., 2009). Efectos similares se observaron en un estudio de fermentación de Nagaraja et al. (1987), donde la suplementación de virginiamicina aumentó la proporción molar de acetato (efecto cuadrático; $P=0.04$) y la estimación de producción de metano (efecto cuadrático $P=0.09$); estos efectos fueron mayores en respuesta a la suplementación de 16 mg/kg de virginiamicina.

En un experimento donde se pusieron a prueba dos dietas y tres antibióticos se utilizaron 6 becerros Holstein (345 ± 20 kg PV inicial) canulados de rumen en un diseño Cuadrado Latino 6×6 . Las dietas de finalización en base a MS fueron: 1) 72% maíz rolo en seco, 12% harina de soya, y 10% heno de alfalfa picada (SBM); 2) 63% maíz rolo en seco, 30% de alimento con gluten húmedo de maíz (salvado dulce, molienda de maíz, EN), y 5% heno de alfalfa picada (WCGF). Las diferencias primarias entre estas dietas eran la fuente de PC y la fuente y nivel de fibra. Tres antibióticos como tratamientos fueron combinados con la ración justa antes de la alimentación: 1) control (no antibiótico); 2) monensina y tilosina (250 y 100 mg/d, respectivamente; MT); y 3) virginiamicina (175 mg/d; VM). En el día 19 y 20, los antibióticos no tuvieron ningún efecto sobre el pH ruminal o concentraciones de AGV, lactato, amoníaco, protozoos ciliados, α -nitrógeno amino (AAN), o péptido N, pero VM redujo ($P<0.01$) la concentración de isovalerato en comparación con MT y control. Después de la dosificación de caseína (d 21), la concentración de péptido N no se vio afectada por los antibióticos, pero AAN fue mayor ($P<0.01$) para VM que MT y control. Se observó una tendencia relativa en la reducción de isovalerato ruminal del control a MT, VM

($P=0.05$), y un aumento de propionato ruminal ($P<0.01$) en el día 21. El pH ruminal fue menor ($P<0.01$) en novillos alimentados SBM que en novillos alimentados WCGF, pero concentraciones de lactato no se vieron afectados por la dieta. Los novillos alimentados con SBM tuvieron mayor concentraciones ruminales ($P<0.05$) del total de AGV y propionato. Las concentraciones de amoníaco fue inferior antes de la alimentación y superior después de la alimentación para los novillos alimentado con WCGF ($P<0.01$). Los novillos alimentados con WCGF tuvieron mayor carga total de protozoos ciliados que los novillos alimentados con SBM ($P<0.05$), debido a una mayor cuantía de *Entodinium sp.* Los novillos alimentados con WCGF tuvieron mayor ($P<0.01$) AAN ruminal y las concentraciones de péptido N que los alimentados con SBM en d 19 y 20. Después de la dosificación caseína, péptido N ruminal, las concentraciones fueron similares, pero AAN fueron menores ($P<0.01$) para WCGF que SBM. En general, VM parece deprimir la actividad desaminasa ruminal, mientras que MT tuvo mínimo efecto sobre productos de la fermentación ruminal (Ives et al., 2002).

Se realizaron dos pruebas donde se evaluaron los siguientes tratamientos: Exp 1 y 2: control (no antibiótico); VM, 175 mg/d (VM1); VM, 250 mg/d (VM2); y monensina / tilosina, 250 y 90 mg/d, respectivamente (MT). Para los cuales se utilizaron en el Exp. 1: 4 Novillos Holstein canulados de rumen, en un diseño de Cuadro Latino 4x4 y en el Exp. 2: Seis novillos Holstein canulados de rumen y asignados al azar a cualquiera de los tratamientos, 1) control, 2) VM (175 mg / día), o 3) MT (250 + 90 mg / d). Los novillos recibieron 70% de concentrado y el 30% heno de alfalfa en el día 1 al 3 (Paso 1), 85% de concentrado y 15% de heno de alfalfa del 4to al 6to d (Paso 2), y el 100% concentrado en el día 7 hasta el 21 (Paso 3). La dieta fue a base de maíz roado (47.7%), sorgo hojueado (49.2%), melaza (1.5%), fosfato dicálcico (1.0%), trazas de sal mineralizada (0.5%), y un suplemento de vitaminas A y D (0.2%). La acidosis ruminal fue inducida en los novillos por la retención de alimentación durante 24 horas y luego la administración intrarruminal de una suspensión de maíz en polvo y almidón de maíz (50:50) a 12.5 g/kg de PV una vez al día. El pH ruminal, recuentos de protozoos, y concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ y AGV general no se vieron afectados por

VM o MT. Recuentos medios de *Lactobacillus* y *Streptococcus bovis* fueron menores ($P<0.05$) para VM en comparación con el control y MT. Tanto VM y MT previnieron el aumento de *Fusobacterium necrophorum* asociados con el aumento de ingesta de la dieta alta en concentrado observado en el control. El objetivo de Exp. 2 fue comparar los efectos de la VM y MT sobre el pH ruminal, L (+) lactato y concentraciones de AGV, y conteo de *F. necrophorum* durante la sobrecarga de hidratos de carbono. El desafío con carbohidratos indujo acidosis ruminal aguda (pH era 4.36 y L (+) lactato era 19.4 mM) en los controles por 36 h. En comparación con los controles, novillos que recibieron VM o MT tuvieron mayor pH ruminal ($P<0.05$), y el grupo VM tuvo una menor concentración de lactato ($P<0.05$) L (+). Al inicio se observó un aumento de *Fusobacterium necrophorum* en novillos con VM y MT, mientras que en los novillos control *F. necrophorum* fue indetectable por 36 h (Coe et al., 1999).

Se realizó un estudio para comparar el efecto de distintos compuestos inoforos y no ionoforos en fermentaciones con liquido ruminal en un medio glucosado. Los productos puestos a prueba fueron Avoparcin, Lasalocid, Monensina, Narasin, Salinomycin, Thiopeptin, Tilosina, Virginiamicina, Monensina + tilosina, RO22-6924/004 y RO21-6447/009. Para ácido láctico: el fluido ruminal de novillo alimentado con una dieta alta en heno de alfalfa, fue incubado con glucosa por 12 horas en un medio buffer, para efectos en AGV: el fluido de la fermentación ruminal con una combinación de carbohidratos, proteínas y vitaminas B. La fermentación de la glucosa con fluido ruminal de ganado alimentado con una dieta con alto forraje resultó en un pH bajo (<4.5) y alta concentración de ácido láctico a las 12 h de incubación. L (+) ácido láctico era el isómero predominante y D (-) generalmente representó sólo del 10 al 20% del ácido láctico total. Las fermentaciones tratadas con compuestos antimicrobianos tuvieron mayor pH final y L (+) inferior a la concentración de ácido láctico que el control sin antibiótico. En la mayoría de los casos, la inhibición del ácido láctico en la medida de L (+) tendía a ser dependiente de la dosis a concentraciones bajas de antibióticos (0.094 a 1.5/g/ml). Todos los compuestos antimicrobianos, excepto Thiopeptin, tendieron a aumentar D (-) la concentración de ácido láctico a bajas concentraciones, pero

eran inhibidores a más altas concentraciones de antibiótico. Además, la extensión de la D (-) la inhibición del ácido láctico era menor que la de L (+) la inhibición del ácido láctico. La D (Consecuente/-) ácido láctico como porciento de ácido láctico total en el fermentaciones tratados con antibióticos fue mayor que la del control. La inhibición máxima de la D (-) láctico se observó con fermentaciones tratados Thiopeptin y virginiamicina. Entre los compuestos no ionoforos (avoparcina, Thiopeptin, tilosina y virginiamicina), avoparcina fue el menos eficaz para reducir la concentración de ácido láctico. Thiopeptin, virginiamicina y tilosina fueron extremadamente eficaces en la inhibición de la producción de ácido láctico. La inhibición de ácido láctico fue casi completa (90 a 93%) en respuesta a thiopeptin, tilosina y virginiamicina. Entre los compuestos ensayados, thiopeptin y virginiamicina parecen ser los inhibidores más eficaces de la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de glucosa.

Nagaraja et al., (1987) realizaron un estudio para comparar el efecto de distintos compuestos ionoforos y no ionoforos en fermentaciones con liquido ruminal en un medio glucosado. Esto con el fin de evaluar el efecto de estos productos sobre la producción de ácido láctico y ácidos graso volátiles (AGV). Los productos puestos a prueba fueron avoparcin, lasalosida, monencina, narasina, salinomicina, thiopeptin, tilisina, virginiamicina, monensina-tilosina, RO22-6924/004 y RO21-6447/009. La concentración total de AGV generalmente no se vio afectada por la adición de los compuestos antimicrobianos, excepto por RO22-6924/004, tilosina y virginiamicina, lo que causó una reducción ($P < 0.05$) en 24.0 um/ml de concentración. Salinomycin y fermentaciones tratados monensina-thiopeptin tuvieron una mayor concentración total de AGV en 3 a 12 ug/ml que el control. La proporción de acetato no fue afectada por la avoparcina, RO22-6924/004, RO21-6447/009, lasalocid, monensina, narasina y salinomicina. Sin embargo, tilosina, monensina y la combinación de tilosina, virginiamicina y thiopeptin incrementaron la proporción molar de acetato a 6 ug/ml o concentraciones más altas. Tilosina y virginiamicina a bajas concentraciones (0.75 a 3.0 ul/ml) aumentaron ($P < 0.05$) y en altas concentraciones (> 6.0 ug/ml) disminuyeron ($P < 0.05$) la proporción molar de propionato. Las fermentaciones con

Tilosin y virginiamicina tuvieron mayor concentración de propionato de etilo para proporciones en 12.0 y 24.0 ug/ml que el control. La proporción molar de butirato se redujo ($P < 0.05$) por todos los compuestos antimicrobianos, incluso a baja concentraciones ensayadas. Por lo general, los antibióticos ionóforos tendieron a ser más inhibidores de proporción de butirato que los antibióticos no ionóforos. Y las proporciones molares de isobutirato, valerato, isovalerato no se vieron afectados por la adición de compuestos antimicrobianos.

Montano et al. (2014), en un estudio donde suplementaron virginiamicina y monensina en novillos Holstein, no observaron efectos de los tratamientos ($P = 0.47$) sobre la digestión ruminal del almidón. Sin embargo, suplementos de monensina y virginiamicina deprimieron (6%; $P < 0.01$) la digestión ruminal de MO. Este efecto fue asociado en parte con la disminución de la digestión ruminal del N (15%, $P = 0.03$), así como y una tendencia a una menor (10%, $P = 0.09$) eficiencia microbiana (g N microbiana entrando en el intestino delgado por kg MO fermentada). La suplementación con virginiamicina y monensina, disminuyó el flujo de N microbiano en el intestino delgado ($P = 0.03$). La magnitud del efecto tendió a ser menor (9% frente a 21%, $P = 0.07$) para virginiamicina que para monensina. Del mismo modo, la depresión en la digestión ruminal de MO fue menor (5%; $P = 0.02$) para la virginiamicina. Por lo tanto, el flujo de amoníaco-N (combinación de microbiano y N de alimentación) para el intestino delgado fue mayor (6%; $P < 0.01$) para la virginiamicina. La digestión ruminal de MO ($P = 0.02$) y la eficiencia de N fueron mayores para virginiamicina ($P < 0.01$) en 5% y 9%, respectivamente. No se observaron efectos del tratamiento ($P \geq 0.19$) sobre la digestión total de MO, almidón y N. Al mismo tiempo, observaron un incremento (2.3%, $P = 0.02$) el pH. El pH ruminal no difirió ($P = 0.17$) para virginiamicina vs. monensina. Consistente con la disminución de la digestión ruminal de MO, las concentraciones de AGV ruminal fueron menores (7%, $P = 0.04$) para las dietas suplementadas con antibióticos. Aunque no se observaron efectos ($P \geq 0.12$) sobre las proporciones molares de VFA ruminal individual, la suplementación con monensina y virginiamicina tendió (8%; $P = 0.09$) a disminuir la producción estimada de metano ruminal.

Nagaraja et al. (1995), realizaron una prueba en ovinos Merino de dos años de edad (45 kg PV), mismos que fueron previamente defaunados mediante una solución oral al 10% de alkanate 3SL3 (ICI Australia, Melbourne, Vie.) durante 4 días. Después de la defaunación recibieron una dieta con paja de trigo (1.4 kg/día) durante 4 semanas, antes de ser expuestas completamente al grano. Durante el experimento todas las ovejas recibieron una dieta basal complementada dos veces por semana con 700 g de granos de cebada. Después de las 7 semanas de adaptación a este régimen alimenticio se implementaron dos tratamientos, animales libres de ciliados (defaunados) (n = 8) y el grupo control (n = 10) ovejas aleatoriamente con 1.7 kg de cebada sola o con virginiamicina (40 g/tonelada) en lugar de los 700 g normales. El día del desafío del grano, la paja fue retenida pero el agua potable se proporcionó *ad libitum*. Todos los animales consumieron los 1.7 kg de grano dentro de una hora de ser alimentado. La inclusión de virginiamicina con cebada disminuyó ($P < 0.05$) los recuentos totales de protozoarios ciliados, principalmente debido a reducción en las especies *Entodinium*. La defaunación no afectó el pH del rumen, ni las concentraciones de lactato, AGV, y amoníaco. Los ovinos desafiados con la cebada, no mostraron evidencia de acidosis ruminal (pH > 6.0) o concentración de lactato (< 1.0 mM). Virginiamicina disminuyó ($P < 0.01$) el pH ruminal y aumentó ($P < 0.05$) las concentraciones de lactato y propionato en el desafío con grano. La concentración de amoníaco se redujo ($P < 0.01$) en ovejas desafiadas con el grano de cebada, pero no en ovinos alimentados con cebada y virginiamicina. Por lo que concluyen que ovejas adaptadas a grano dos veces por semana fueron capaces de resistir la sobrealimentación con el grano y la virginiamicina. Estos autores concluyeron que la inclusión de virginiamicina tendió a aumentar la acumulación de ácido láctico en el rumen, planteándose la hipótesis de que el efecto de la virginiamicina en el patrón de fermentación ruminal (elevado lactato y propionato) fue un reflejo de la redirección de electrones fuera de la producción de metano.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento consistió en dos pruebas; una de comportamiento productivo y una de metabolismo digestivo, mediante las cuales se evaluó el efecto de la inclusión de virginiamicina sobre comportamiento productivo y parámetros digestivos en dietas altas en aminoácidos para novillos en crecimiento-finalización.

Las técnicas de cuidado de los animales y de manejo fueron aprobados tanto por la Universidad de California y el Comité de Cuidado de Animal, como por SAGARPA, NOM-050-ZOO.

Ubicación

La prueba de comportamiento productivo se realizó en el Desert Research and Extension Center (DREC) de la Universidad de California, Davis, en El Centro CA, USA., y la de metabolismo digestivo en la Unidad de Metabolismo Digestivo del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, localizada a un kilómetro del fraccionamiento Campestre en la ciudad de Mexicali, Baja California. El clima se considera como cálido muy seco, con una temperatura media anual de 22°C, con oscilaciones de la media mensual mayores a 14° C, con lluvias en invierno (SAGARPA, 2007).

Prueba 1. Comportamiento productivo

Se utilizaron ciento veinte becerros Holstein (127 ± 9 kg) para evaluar la influencia de la nutrición de proteínas y la suplementación de virginiamicina sobre el crecimiento y eficiencia energética de la dieta. Los terneros se obtuvieron de un rancho comercial (CalfTech, Tulare, CA). A su llegada a la University of California Desert Research and Extension Center (Holtville, CA), los terneros fueron tratados contra parásitos internos y externos (Dectomax, Pfizer Animal Health, Nueva York, Nueva York), inyectados con 1.500 UI de vitamina E (como d- alfa-tocoferol) 500 000 UI de vitamina A (como palmitato de retinilo-) y 50.000 UI vitamina D₃ (Vital E-

AD, Stuart Products, Bedford, TX), y 300 mg tulatromicina (Draxxin, Pfizer Animal Health, Nueva York, Nueva York). Los becerros fueron bloqueados por peso inicial en cinco grupos y asignados al azar dentro de 20 corrales por cada grupo de peso (seis novillos por corral). Los corrales contaron con 43 m² con 22 m² de sombra, contando con bebederos automáticos y 2.4 m de comedero lineal. A los becerros se les permitió el acceso *ad libitum* a alimento y agua. Se proporcionó alimento fresco dos veces al día (06:00 y 14:00 horas), ofreciéndose aproximadamente el 40% del consumo diario en la alimentación de la mañana y el resto en la alimentación por la tarde. La composición de las dietas experimentales se muestra en la Tabla 1. Durante el período inicial de alimentación 112-d, los tratamientos dietéticos constaron de dos niveles de proteína metabolizable (100 vs 87% de los requerimientos esperados durante el período inicial de alimentación 112 d; NRC, 2000) suplementado con o sin el 22.5 mg de virginiamicina/kg en un arreglo factorial 2 × 2. La dieta baja en proteínas metabolizables (87% de los requerimientos; NRC, 2000) es típica de las formulaciones convencionales actuales en corral de engorda, utilizando urea como la única fuente de nitrógeno suplementario. Posteriormente (d 112 a 308 d), todos los novillos recibieron las dietas a base de urea. Los novillos que hasta entonces recibieron dietas designadas como 1 y 2 se cambiaron a las dietas designadas como 3 y 4, respectivamente (Tabla 1). Las dietas se prepararon a intervalos semanales y se almacenaron en cajas de madera contrachapada, situados en frente de cada corral. En el día 84, 140, y 224, se inyectaron todos los novillos por vía subcutánea con 500 000 UI de vitamina A (Vital E-A + D, Stuart Products, Bedford, TX) y se implantaron con Revalor-S (Intervet, Millsboro, DE).

El peso de las canales caliente (PCC) fue obtenido a la hora del sacrificio. Después las canales fueron refrigeradas por 24 horas, y se obtuvieron las siguientes mediciones: área del musculo *Longissimus* (ML) (cm²) por lectura directa de rejilla del músculo en la costilla 12; grasa subcutánea (cm) por encima del ML en la 12^a costilla tomada en un lugar a 3/4 de la longitud lateral desde el extremo del hueso del lomo (ajustado por el ojo de la distribución de grasa inusual); grasa de riñón, pelvis y corazón (RPC) como un porcentaje de PCC; el

grado de marmoleo (USDA 1997; utilizando 3.0 como mínimo ligero, 4.0 como mínimo pequeña, 5.0 como mínimo modesto, 6.0 como mínimo moderado, etc.), el rendimiento estimado de cortes al menudeo sin hueso, sin grasa de recorte obtenidos de la pierna, lomo costillar y paleta. (% de TS; Murphey et al., 1960) = $52.56 - 1.95 \times \text{grasa subcutánea} - 1.06 \times \text{RPC} + 0.106 \times \text{área de ML} - 0.018 \times \text{PCC}$.

La energía de ganancia (EG, Mcal/d) se calculó mediante la ecuación: $EG = 0.0557W^{0.75} \times GDP^{1.097}$; donde EG es la energía diaria depositada y W es el peso vivo (NRC, 1984). La energía de mantenimiento (EM, Mcal/d) se calculó por la ecuación: $EM = 0.084W^{0.75}$ (Garrett, 1971). A partir de las estimaciones derivadas de energía necesaria para el mantenimiento y la ganancia, se obtuvieron los valores ENm y ENg de la dieta mediante la fórmula cuadrática: $x = (-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}) / 2c$, donde $a = -0.41EM$, $b = 0.877EM + 0.41CMS + EG$, y $c = -0.877DMI$, y $ENg = 0.877 ENm - 0.41$ (Zinn y Shen, 1998).

Los datos correspondientes a las variables de rendimiento de crecimiento se analizaron en un diseño de bloques completos al azar, con arreglo factorial 2 x 2 de los tratamientos, teniendo en cuenta las agrupaciones iniciales por peso de bloques, y al corral como unidad experimental, de acuerdo con el siguiente modelo estadístico: $Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + \epsilon_{ij}$, donde μ es el efecto común de experiencias, B_i representa efecto de bloque de peso inicial, T_j representa el efecto del tratamiento dietético, y ϵ_{ij} representa el error residual. En la determinación de la GDP, los pesos intermedios y finales se redujeron 4% para dar cuenta del llenado del tracto digestivo. El peso final de la canal se ajustó dividiendo PCC por la fracción decimal del rendimiento de la canal promedio (0.619). Los efectos principales de tratamiento e interacciones fueron probados por medio de contrastes ortogonales (STATISTIX 10, Analytical Software, Tallahassee, FL).

Prueba 2. Metabolismo digestivo

Las dietas fueron las mismas utilizadas en el experimento 1 (comportamiento) durante el periodo inicial de alimentación a los 112 días, con la inclusión de 0.3% de óxido crómico como marcador indigestible para estimar flujos de nutrientes y digestibilidad. El óxido crómico fue premezclado con los ingredientes menores (urea, piedra caliza y sales minerales traza) antes de ser incorporado en la mezcla de la dieta completa. Se utilizaron cuatro novillos Holstein de (146 ± 4 kg) con cánulas en rumen y duodeno proximal en un diseño de cuadrado latino 4X4 para evaluar los efectos de tratamiento sobre la función digestiva. Los novillos fueron alojados (instalaciones interiores) en corrales individuales (4 m^2) con piso de concreto cubierto por alfombra de neopreno, bebederos automáticos y comederos de alimentación individual.

Los novillos se alimentaron diariamente con las dietas experimentales en porciones iguales a las 8:00 y 20:00 h. El consumo de materia seca se limitó al 2.2% del peso corporal. Los periodos experimentales consistieron en 10 días para adaptación a la dieta y 4 días para la toma de muestras. Entre cada período experimental, a los novillos se les permitió un período de 7-d de recuperación, con la finalidad de evitar el efecto de arrastre de los tratamientos, durante el cual todos los novillos fueron alimentados con la dieta basal urea sin ningún suplemento, (dieta 3, tabla 1). Durante los periodos de recolección de muestras duodenales y de heces, se tomaron muestras dos veces al día en el siguiente horario: día 1, 10:30 y 16:30; d 2, 9:00 y 15:00; D3, 7:30 y 15:00; y d 4, 6:00 y 12:00. Las muestras individuales consistieron en aproximadamente 700 mL de quimo duodenal y 200 g (base húmeda) de heces. Las muestras para cada novillo dentro de cada periodo de recolección fueron compuestas para su posterior análisis.

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales.

Ingrediente	AAM		Urea	
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc	0 mg Vmax	22.5 mg Vmyc
Dieta	1	2	3	4
Composición Ingrediente, % MS				
Heno de Alfalfa	6.00	6.00	6.00	6.00
Heno se pasto Sudan	6.00	6.00	6.00	6.00
Maíz rolado al vapor	69.66	69.66	76.20	76.20
Mezcla de proteínas ^a	7.00	7.00	0	0
Grasa amarilla	2.00	2.00	2.00	2.00
Melaza de caña	6.00	6.00	6.00	6.00
Piedra caliza	1.27	1.27	1.27	1.27
Urea	0.90	0.90	1.30	1.30
Sales minerales traza ^b	0.40	0.40	0.40	0.40
Oxido de Magnesio	0.15	0.15	0.15	0.15
Fosfato dicálcico	0.62	0.62	0.65	0.65
Virginiamicina, mg/kg ^c	0	25	0	25
Composición en nutrientes ^c				
Energía neta, Mcal/kg				
Mantenimiento	2.17	2.17	2.19	2.19
Ganancia	1.49	1.49	1.51	1.51
Proteína cruda, %	16.7	16.7	12.9	12.9
UIP, %	51.1	51.1	34.5	34.5
DIP, %	48.9	48.9	65.5	65.5
METm, g/d (NRC, 1996 Level 1)	13.4	13.4	10.8	10.8
LYSm, g/d (NRC, 1996 Level 1)	47.6	47.6	29.9	29.9
Extracto etéreo, %	5.36	5.36	6.00	6.00
Calcio, %	0.80	0.80	0.80	0.80
Fosforo, %	0.40	0.40	0.28	0.28
Potasio, %	0.78	0.78	0.78	0.78
Magnesio, %	0.26	0.26	0.26	0.26
Azufre, %	0.24	0.24	0.18	0.18

^a Mezcla comercial de granos de maíz y harina de sangre de destilería, que contiene (base MS) 1.1% metionina, 5.7% lisina, y 77.5% proteína cruda; PROVAAL² AAdvantage, Perdue AgSolutions LLC, Salisbury, MD.

^b Sal mineral traza: CoSO₄, 0.068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 0.75%; MnSO₄, 1.07%; KI, .052%; y NaCl, 93.4%.

^c V-Max[®] 50, Phibro Animal Health, Teaneck, NJ.

Durante el último día de cada periodo de recolección, se obtuvieron muestras de cada novillo a través de la cánula ruminal a 4 h después de la alimentación. El pH de líquido ruminal se determinó en muestras recién colectadas. Las muestras fueron luego filtradas a través de cuatro capas de gasa y se tomaron 8 mL de líquido ruminal filtrada añadiéndole dos mililitros de ácido meta-fosfórico al 25% (peso/vol) recién preparado. Las muestras fueron posteriormente centrifugadas (17000 x g por 10 minutos), y el líquido sobrenadante se almacenó a -20 °C para el análisis de ácidos grasos volátiles. Al finalizar el experimento, se obtuvo líquido ruminal de todos los novillos y se preparó el compuesto para el aislamiento de bacterias ruminales mediante centrifugación diferencial (Bergen et al., 1968). Muestras fecales, líquidos duodenales, y dietas de alimentación fueron sometidas a los siguientes análisis: MS (horno de secado a 105 °C hasta no perder peso); cenizas (método 942.05, AOAC, 1986), N Kjeldahl (método 984.13, AOAC, 2000); FDN (Van Soest et al., 1991), corregido para cenizas de la FDN insoluble, incorporando α -amilasa a calor estable (Ankom FAA, Ankom Technology, Macedonia, New York) en 1 mL por cada 100 mL de solución FDN); aminoácidos (hidrólisis bajo N en ampollas selladas con 6N HCL durante 24 h a 110 °C seguido por análisis de aminoácidos Beckman 6300 analizador del aminoácido (Beckman Instruments, Fullerton, CA), metionina (previa oxidación con ácido perbromico antes de la hidrólisis de ácido clorhídrico, Spingler et al., 1984), óxido crómico (Hill y Anderson, 1958) y almidón (Zinn, 1990). Se analizaron muestras duodenales para N amoniacal (método de 941.04, AOAC, 2000) y purinas (Zinn y Owens, 1986). La MS de Flujo duodenal y la excreción fecal se calcularon basándose en el cociente del marcador, usando óxido crómico. Materia orgánica microbiana (MOM) y N microbiano (NM) que abandona el abomaso se calculó con purinas como marcador microbiano (Zinn y Owens, 1986). La materia orgánica fermentada (MOF) en el rumen se consideró igual a la toma de MO menos la diferencia entre la cantidad de MO total que alcanza el duodeno y MOM que alcanza el duodeno. El escape de N del alimento al intestino fue considerado igual a N total que abandonó el abomaso menos N amoniacal, NM y N endógeno ($0.195 \times BW^{0.75}$; Ørskov et al., 1986). Se monitoreo

la temperatura ruminal a intervalos de 5 min durante los periodos de recolección de muestras en el día 4 por medio bolos de registro de datos de temperatura ruminal (IDL-705 Ruminal bolo, Telonics, Inc., Meza, AZ).

El experimento se analizó como un cuadrado latino balanceado 4 X 4 con un arreglo factorial 2 X 2 (Stastix 10, Software analítico, Tallahassee, FL). El modelo estadístico para la prueba fue la siguiente: $Y_{ijk} = \mu + L_i + P_j + T_k + E_{ijk}$, donde Y_{ijk} es la variable de respuesta, μ es el efecto experimental común, L_i es el efecto animal, P_j es el efecto período, T_k es el efecto del tratamiento y E_{ijk} es el error residual. Los efectos de tratamiento principales e interacciones fueron probados mediante contrastes ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba 1.- Los efectos de los tratamientos sobre el crecimiento y la energía neta de la dieta (EN) se muestran en la Tabla 2. No hubo efectos de tratamientos ($P > 0.10$) sobre CMS. Tal y como estaba previsto, la dieta formulada para cumplir con los requerimientos de aminoácidos metabolizables en novillos Holstein alimentados durante el período inicial de 112 d (AAM) aumentó la GDP (12.4%; $P < 0.01$), la eficiencia de ganancia (12.7%; $P < 0.01$) y la EN de la dieta (9%; $P < 0.01$) respecto a la de los novillos que recibieron la dieta UREA convencional. La ganancia diaria de peso y la eficacia de la utilización de energía se incrementan proporcionalmente con el suministro de aminoácidos metabolizables, alcanzando una curva máxima cuando los suministros de aminoácidos limitantes se cumplen (Zinn y Owens, 1993; Zinn et al., 2007). Sobre la base de cualquier estimación factorial (NRC, 2000) o empírica (Zinn, 1988) se acerca para la estimación de las necesidades, por lo que se espera que la dieta convencional a base de maíz rolado al vapor con urea como la única fuente de suplemento de N va a ser deficiente en metionina metabolizable y lisina durante este periodo 112-d inicial. Por lo tanto, se observó que la EN promedio en la dieta fue 97.0 y 87.5% de lo esperado para las dietas del AAM y urea, respectivamente. En estrecha concordancia, Zinn et al. (2007) observaron que en comparación con una dieta de crecimiento y acabado a base de urea convencional, la suplementación para satisfacer las necesidades de aminoácidos metabolizables en novillos Holstein alimentados durante la etapa inicial de 112 d aumenta la relación de observada vs EN dietética esperado de 87.0 % a 96.5%. En el presente estudio, la dieta a base de maíz rolado al vapor fue equilibrada para aminoácidos metabolizables utilizando una mezcla comercial de granos secos de destilería y harina de sangre porcina como la fuente de proteína suplementaria, mientras que en el caso de Zinn et al. (2007), la dieta fue equilibrada utilizando la harina de pescado como fuente de proteínas suplementaria. Zinn y Owens (1993) observaron respuestas similares en la etapa inicial de 84-d GDP, eficiencia de ganancia y observado vs EN dietética esperado de peso ligero (198 kg) los novillos mestizos alimentados con una dieta de crecimiento a base de maíz rolado al vapor equilibrada para los

aminoácidos metabolizables utilizando una mezcla de harina de sangre, harina de plumas y harina de carne y hueso. Una vez más, la relación de observada vs EN dietética esperado para equilibrado vs urea como la única fuente de N suplementario fue comparable a la observada con Holstein con un promedio 95 y 88%, respectivamente.

A lo largo de los siguientes 196 días del estudio, cuando todos los novillos recibieron la dieta urea (d 112 a 308 d), de forma de N complementario durante el período inicial no afectó ($P > 0.10$) GDP, eficiencia de ganancia y EN de la dieta, lo cual se esperaba, ya que durante este período todos los novillos estaban recibiendo la misma dieta. En general (d 1 a d 308), la formulación de dietas para satisfacer los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante el período inicial de 112-d no afectó a la GDP ($P > 0.10$). Sin embargo, los efectos del AAM durante el período inicial de 112-d, resulta en un aumento general (308-d) de la eficiencia de ganancia (4.2%; $P = 0.03$), y la EN de la dieta (4.3%; $P = 0.05$). Del mismo modo, Zinn et al. (2007) observaron que, tras un período de inicial de 112 d, cuando los terneros fueron alimentados con una dieta equilibrada para satisfacer las necesidades de aminoácidos metabolizables, el rendimiento posterior 239-d cuando todos los terneros recibieron una dieta a base de maíz rolado al vapor, donde la urea era la única fuente de N suplementario fue similar en todos los tratamientos en los 112-d iniciales. Sin embargo, en términos generales (d 1 a d 308) GDP, eficiencia de ganancia y EN observada vs esperada de la dieta fueron mayores para los novillos alimentados con una dieta que fue equilibrada para satisfacer los requerimientos de aminoácidos metabolizables durante el período inicial de 112-d. Por lo tanto, los novillos Holstein, a pesar del período de alimentación largo (> 300 d de la alimentación), no compensan las ineficiencias en el funcionamiento debido a deficiencias de aminoácidos durante el período inicial de alimentación de 112 d.

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre comportamiento productivo de novillos Holstein.

Ingrediente	AAM ¹		Urea ²		CME	Valor P		
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc		PC	Vmyc	Interacción
Días de prueba	308	308	308	308				
Corrales	5	5	5	5				
Peso vivo ³ , kg								
Inicial	130	131	131	131	0.5	0.63	0.51	0.12
Final	561	597	574	569	12	0.53	0.21	0.11
GDP, kg								
1 a 112 d	1.38	1.44	1.24	1.26	0.02	<0.01	0.08	0.37
112 a 224 d	1.52	1.67	1.64	1.62	0.05	0.51	0.25	0.13
224 a 308 d	1.27	1.40	1.43	1.38	0.06	0.31	0.54	0.19
1 a 308 d	1.40	1.51	1.44	1.42	0.04	0.51	0.21	0.12
CMS, kg /d								
1 a 112 d	5.39	5.35	5.46	5.29	0.08	0.98	0.20	0.43
112 a 224 d	8.66	8.91	8.91	8.78	0.24	0.80	0.82	0.43
224 a 308 d	10.1	10.4	11.0	10.2	0.27	0.28	0.41	0.08
1 a 308 d	8	7	1	6				
1 a 308 d	7.89	8.04	8.23	7.91	0.16	0.52	0.62	0.18
GDP/CMS, kg/kg								
1 a 112 d	0.25	0.27	0.22	0.23	0.00	<0.01	<0.01	0.72
112 a 224 d	5	0	7	9	4	1		
224 a 308 d	0.17	0.18	0.18	0.18	0.00	0.40	0.09	0.12
1 a 308 d	6	7	4	4	3			
1 a 308 d	0.12	0.13	0.13	0.13	0.00	0.48	0.11	0.52
1 a 308 d	5	4	0	4	4			
1 a 308 d	0.17	0.18	0.17	0.18	0.00	0.03	<0.01	0.29
1 a 308 d	8	8	5	0	2			
EN dieta, Mcal/d								
Mantenimiento								
1 a 112 d	2.05	2.15	1.89	1.96	0.02	<0.01	<0.01	0.60
112 a 224 d	2.10	2.22	2.11	2.12	0.03	0.15	0.03	0.08
224 a 308 d	2.03	2.17	2.04	2.12	0.04	0.57	0.02	0.44
1 a 308 d	2.08	2.21	2.06	2.11	0.03	0.05	<0.01	0.18
Ganancia								
1 a 112 d	1.39	1.48	1.24	1.31	0.02	<0.01	<0.01	0.60
112 a 224 d	1.43	1.54	1.44	1.45	0.02	0.15	0.03	0.08
224 a 308 d	1.37	1.49	1.38	1.45	0.03	0.57	0.02	0.44
1 a 308 d	1.42	1.52	1.40	1.44	0.02	0.05	<0.01	0.18
Observado/esperado EN dieta								
Mantenimiento								
1 a 112 d	0.95	0.99	0.86	0.89	0.01	<0.01	0.03	0.59
112 a 224 d	0.96	1.01	0.96	0.97	0.01	0.15	0.03	0.08

224 a 308 d	0.93	0.99	0.93	0.97	0.02	0.57	0.02	0.44
1 a 308 d	0.95	1.01	0.94	0.96	0.01	0.04	<0.01	0.18
Ganancia								
1 a 112 d	0.92	0.98	0.82	0.87	0.01	<0.01	0.03	0.60
						1		
112 a 224 d	0.95	1.02	0.95	0.96	0.02	0.15	0.03	0.08
224 a 308 d	0.91	0.99	0.91	0.96	0.02	0.57	0.02	0.44
1 a 308 d	0.94	1.01	0.92	0.95	0.02	0.04	<0.01	0.18

¹Dieta suplementada con proteína para satisfacer los requerimientos esperados de aminoácidos metabolizables durante los 112 días iniciales de alimentación (NRC, 2000).

²Urea única fuente de suplemento N.

³ Los pesos iniciales y finales en vivo redujeron un 4% para cubrir el relleno. Peso final ajustado para el peso de la canal mediante la división del peso de la canal por la fracción decimal del porcentaje de preparación promedio para todos.

La suplementación de virginiamicina no afectó ($P > 0.10$) CMS inicial o general. Durante el período inicial de 112 d, la suplementación de virginiamicina tendió a aumentar GDP (3.3%; $P = 0.08$), eficiencia de ganancia (5.6%; $P < 0.01$) y EN de la dieta (4.3%; $P < 0.01$). Durante el resto del experimento y en general (d1 a d 308), el efecto sobre GDP no fue apreciable ($P > 0.10$). Sin embargo, en comparación con las dietas no suplementadas, aumentó la eficiencia general de ganancia (4.2%; $P < 0.01$) y EN de la dieta (4.3%; $P < 0.01$). De hecho, la aparente mejora en la EN de la dieta fue consistentemente ($P \leq 0.03$) en cada período del estudio. En un ensayo de 340-d en crecimiento y finalización, Salinas-Chavira et al. (2009), tampoco observaron un efecto de la suplementación de la virginiamicina en GDP de novillos Holstein alimentados con una dieta a base de maíz roado a vapor. Sin embargo, de acuerdo con el presente estudio, la suplementación de virginiamicina aumentó la eficiencia de ganancia (4.0%) y la relación de EN dietética observada vs esperado (3.8%). En un resumen de 7 pruebas de crecimiento y rendimiento en el que implica razas de carne alimentados en corral por tiempos de 112 a 245 d, la suplementación de la dieta con 19 a 27 mg/kg (base seca) se mejoró tanto GDP (4.6%) como la eficiencia de ganancia (3.6%). En un estudio de acabado 145 d que implica novillos mestizos de un año alimentados con una dieta a base de maíz roado al vapor, Montañón et al. (2014), observaron que la suplementación de la virginiamicina aumentó GDP (7.5%), la eficiencia de ganancia (11.9%), y la relación de EN dietética observada

vs esperado (9.6%). Costa et al. (2015), evaluaron un menor nivel de suplementación virginiamicina (0 frente a 15 mg/kg de MS dieta) sobre el rendimiento de engorde de novillos Nelore, la suplementación de virginiamicina no afectó GDP, pero aumentó 5.9 % el valor de EN de la dieta.

No se observó efectos de suplementación AAM ($P > 0.10$) durante el período inicial de 112-d sobre características de la canal (Tabla 3). Zinn et al. (2007), observaron una tendencia sobre rendimiento de la canal, espesor de la grasa y área del músculo *longissimus* de novillos Holstein alimentados y suplementados para cumplir con los requerimientos de aminoácidos metabolizables. Estos efectos se atribuyeron a los efectos del tratamiento sobre el peso de la canal. La suplementación de virginiamicina tendió a aumentar el porcentaje de rendimiento de la canal (0.9%, $P=0.09$). Se observó interacción ($P=0.03$) entre el AAM y la virginiamicina sobre el porcentaje RPC, el cual fue mayor ($P < 0.05$) para el AAM más virginiamicina, que para la urea más virginiamicina. La base para este efecto es incierto, aunque de nuevo, coincide con las diferencias en peso de la canal ($r^2=0.66$).

Prueba 2.- Los efectos de tratamiento sobre las características de la digestión ruminal y total se muestran en la Tabla 4. No hubo efectos de tratamientos ($P > 0.10$) sobre la digestión ruminal de MO, FDN, almidón o eficiencia microbiana ruminal. Como era de esperar, AAM aumentó ($P < 0.01$) N no amoniacal a intestino delgado y disminuyó ($P=0.04$) el porcentaje de N del alimento degradado en el rumen. El N no amoniacal en el intestino como un porcentaje de consumo de N (eficiencia del N) fue mayor (12.6%; $P < 0.01$) con urea que con AAM, consistente con la ganancia neta de N por N reciclado (Kennedy y Milligan, 1980; May et al., 2014). La suplementación de virginiamicina disminuyó ligeramente (6.1%; $P = 0.04$) el flujo de N no amoniacal al intestino delgado, tendiendo (interacción; $P = 0.10$) a ser más evidente con la dieta AAM, aunque la base para esto es incierta. Ives et al. (2002) observaron *in vitro* mayor actividad de la proteasa debido a la suplementación de la virginiamicina. De acuerdo con el presente estudio, efectos de la suplementación de la virginiamicina en el flujo de N

no amoniacal en el intestino delgado en novillos alimentados con dietas de finalización a base de maíz rolado a vapor con urea como única fuente de N suplementario tampoco fueron apreciables en estudios anteriores (Salinas-Chavira et al., 2009; Montano et al., 2014).

Tabla 3. Efecto de tratamiento sobre las características de la canal.

Item	MAA		Urea ²		CME	Valor P		
	Balanceado ¹		0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc		Proteína	Vmyc	Interacción
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc						
Días de estudio	308	308	308	308				
Corrales	5	5	5	5				
Peso de la canal, kg	347.5	369.4	355.4	352.4	7.2	0.53	0.21	0.11
Porcentaje de rendimiento	61.7	62.4	61.5	61.9	0.3	0.21	0.09	0.58
Area del longissimus, cm ²	79.3	81.3	80.3	82.1	2.00	0.67	0.36	0.98
Espesor de la grasa, cm	0.74	0.90	0.77	0.78	0.06	0.48	0.16	0.24
RPC, % ³	2.18ab	2.33a	2.28ab	2.13b	0.06	0.44	1.00	0.03
Rendimiento de la canal, % ⁴	52.3	52.0	52.2	52.6	0.21	0.32	0.91	0.16
Grado de calidad de la canal ⁵	4.37	4.67	4.61	4.37	0.22	0.90	0.90	0.23

¹ Dieta suplementada con proteínas para cumplir con los requisitos de aminoácidos metabolizables durante la fase inicial de 112 días de alimentación (NRC, 2000).

² Urea como única fuente de N suplementario.

³ Grasa del riñón, pelvis, y corazón como porcentaje del peso de la canal.

⁴ Rendimiento estimado de cortes al menudeo sin hueso, sin grasa de recorte obtenidos de la pierna, lomo costillar y paleta (USDA, 1997).

⁵ Codificado: ligero mínimo =3, pequeño mínimo =4, etc.

No hubo efectos de tratamiento ($P > 0.10$) sobre la digestión del tracto total de MO y FDN. La digestión en tracto total de N ($P < 0.01$) y almidón ($P = 0.04$) fueron mayores con AAM que con dietas con urea. La mayor digestión aparente de N es un resultado predecible debido a la mayor concentración dietética de N (Marini et al., 2007). Consistente con trabajos previos (Salinas Chavira et al., 2009;

Montano et al., 2014) la suplementación de virginiamicina no afectó ($P > 0.10$) la digestión en tracto total de N o almidón.

Tabla 4. Efectos de tratamiento sobre las características digestivas de rumen y tracto total (experimento 2).

Item	MAA		Urea ¹		CME	Valor P		
	Balanceado ¹		0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc		Proteína	Vmyc	Interacción
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc						
Consumo, g/d								
MS	3260	3260	3260	3260				
MO	3058	3058	3070	3070				
FDN	527	527	511	511				
N	81	81	56	56				
Almidón	1516	1516	1679	1679				
Flujo a dueodeno, g/d								
N no amoniacal	87.01	78.8	65.2	64.1	2.0	0.01	0.04	0.10
N	41.9	39.7	38.7	38.7	2.0	0.31	0.60	0.59
N microbial	36.9	30.8	18.3	17.2	2.6	0.01	0.20	0.37
Digestión en rumen, %								
MO	64.6	64.9	62.1	61.3	4.6	0.52	0.96	0.90
FDN	58.2	55.3	56.5	54.7	7.0	0.88	0.74	0.94
Almidón	85.0	82.7	78.5	75.1	5.4	0.22	0.61	0.92
N-dieta	54.1	61.7	67.2	69.2	4.5	0.04	0.31	0.54
Eficiencia microbial ¹	21.3	20.1	20.8	22.0	2.1	0.74	0.98	0.57
Eficiencia de nitrógeno ²	1.08	0.98	1.17	1.15	0.04	0.01	0.12	0.28
Digestión tracto total, %								
MS	81.3	80.6	79.1	77.2	1.7	0.12	0.44	0.72
MO	83.5	82.7	81.3	79.5	1.6	0.12	0.44	0.74
FDN	60.5	60.0	58.2	56.5	3.9	0.48	0.78	0.89
N	74.3	72.1	57.7	61.3	2.0	0.01	0.74	0.18
Almidón	98.9	98.7	97.9	96.4	0.7	0.04	0.27	0.39

¹ N microbial duodenal, g kg⁻¹ MO fermentada en el rumen.

² N no amoniacal duodenal, g g⁻¹ N consumido.

³ Interacción de tratamiento ($P < 0.05$).

Los efectos del suministro de aminoácidos indispensables al intestino se muestran en la tabla 5. Consistente con el aumento del flujo de N no amoniacal, el flujo de aminoácidos indispensable para el intestino delgado también fue mayor (41%; $P < 0.01$) con AAM que para Urea. Además, se observó que el suministro de aminoácidos concuerdan con los esperados basados en la NRC (2000, nivel 1;

Observado = 0.97 esperados -0.35 , $r^2 = 0.96$). Aunque la suplementación de virginiamicina disminuyó el flujo de N no amoniacal al intestino de novillos alimentados con la dieta AAM, no afectó ($P = 0.64$) flujo de aminoácidos al intestino.

Tabla 5. Esperado vs observada de la suplementación de aminoácidos indispensables para el intestino delgado de novillos Holstein (experimento 2).

Item	MAA Balanced ¹		Urea ¹		SEM	P value		
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc		Protein	Vmyc	Interaction
Metionina								
NRC, 2000 nivel 1	9.45	9.45	7.62	7.62				
Dejando abomaso	8.61	8.87	7.18	6.95	0.55	0.01	0.98	0.67
Lisina								
NRC, 2000 nivel 1	33.56	33.56	21.19	21.19				
Dejando abomaso	33.48	30.87	21.72	22.72	1.79	<0.01	0.66	0.33
Arginina								
NRC, 2000 nivel 1	25.56	25.56	18.67	18.67				
Dejando abomaso	22.02	20.36	15.66	16.23	1.28	<0.01	0.68	0.40
Treonina								
NRC, 2000 nivel 1	22.58	22.58	16.80	16.80				
Dejando abomaso	24.83	22.50	17.64	18.05	1.43	<0.01	0.52	0.36
Leucina								
NRC, 2000 nivel 1	50.91	50.91	32.20	32.20				
Dejando abomaso			33.14	3	2.73	<0.01	0.66	0.35
	50.71	46.82		4.53				
Isoleucina								
NRC, 2000 nivel 1	18.56	18.56	16.97	16.97				
Dejando abomaso	19.22	17.86	15.99	16.41	1.30	0.10	0.72	0.51
Valina								
NRC, 2000 nive 1	31.67	31.67	19.65	19.65				
Dejando abomaso	29.68	27.08	18.32	18.65	1.49	<0.01	0.46	0.35
Histidina								
NRC, 2000 nivel 1	18.59	18.59	9.04	9.04				
Dejando abomaso	14.52	13.37	7.76	8.00	1.29	<0.01	0.50	0.30
Fenilalanina								
NRC, 2000 nivel 1	27.94	27.94	17.10	17.10				
Dejando abomaso	26.36	24.84	17.17	17.90	1.41	<0.01	0.44	0.34
Total aminoacidos indispensables								
NRC, 2000 nivel 1	238.8	238.8	159.2	159.2				
Dejando abomaso	228.7	211.8	154.0	158.8	12.6	<0.01	0.64	0.40

Los efectos del tratamiento sobre el pH ruminal, la proporción molar de AGV y la producción de metano estimado se muestran en la tabla 6. No hubo efectos sobre el pH ruminal, la proporción molar de acetato, propionato y butirato y la producción de metano. La ausencia de efectos en proporciones molares de AGV en rumen han sido una constante de respuesta a la suplementación de virginiamicina (Ives et al., 2002; Salinas Chavira et al., 2009; Montano et al., 2014).

Aunque Salinas Chavira et al. (2009) e Ives et al. (2002), no observaron un efecto de la suplementación de la virginiamicina en el pH ruminal, Montaña et al. (2014), observaron que la suplementación de virginiamicina aumentó pH ruminal. En comparación con la dieta con UREA, AAM incrementó las proporciones molares de isobutirato de AGV de cadena ramificada (54%, $P = 0.05$) e isovalerato (136%, $P < 0.01$), reflejando la mayor oferta ruminal de aminoácidos ramificados con la dieta AAM.

Tabla 6. Efecto de tratamiento sobre el pH ruminal, proporción molar de AGV y estimación de la producción de metano.

Item	MAA		Urea ¹		CME	Valor P		
	Balanceado ¹		0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc		PC	Vmyc	Interacción
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc						
pH, rumen	6.17	6.09	5.93	6.14	0.12	0.45	0.61	0.27
AGV en rumen (mol/100 mol)								
Acetato	58.8	60.8	59.2	60.6	1.9	0.95	0.40	0.89
Propionato	23.2	19.4	24.0	25.3	4.4	0.46	0.79	0.58
Isobutirato	1.04	1.07	0.78	0.59	0.17	0.05	0.56	0.52
Butirato	12.5	13.97	13.26	10.98	2.03	0.59	0.84	0.37
Isovalerato	3.40	3.38	1.51	1.36	0.61	<0.01	0.90	0.91
Valerato	1.13	1.41	1.23	1.14	0.11	0.45	0.38	0.11
Acetato:propionato	2.58	3.23	2.81	2.92	0.60	0.94	0.54	0.66
Metano ¹	0.56	0.60	0.55	0.54	0.05	0.50	0.70	0.65

¹Producción de metano (equivalente a mol/mol de glucosa fermentada) se calculó basado en equilibrio teórico de fermentación para la distribución observada de AGV, Wolin, 1960).

No hubo efectos tratamiento en la temperatura ruminal promedio $39.4 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$ (Figura 2). Sin embargo, la temperatura ruminal durante el período de 6 h después de la alimentación de las 8:00 am fue ligeramente mayor (1.8%; $P < 0.01$) que el período de 6 h después de la alimentación de las 8:00 pm, con un promedio de 40.1 y 39.4°C , respectivamente. Esta diferencia corresponde a patrones diurnos de temperatura ambiente. La temperatura ambiente promedio durante los periodos de 6 h después de la alimentación de la mañana y noche fueron 17.4 ± 3.4 y $11.7 \pm 5.5^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

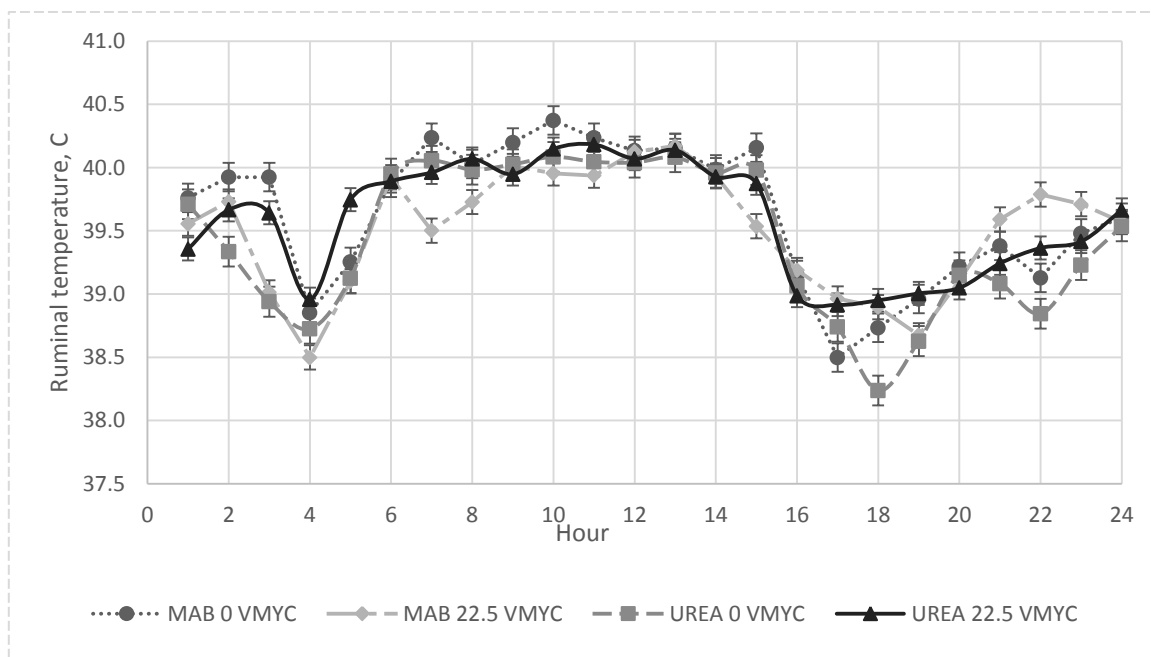


Figura 2. Efecto de tratamiento sobre la temperatura ruminal.

En la extrapolación de los resultados del experimento 2, el suministro de aminoácidos intestinales del experimento 1 se estimó suponiendo que flujo postruminal de cada aminoácido indispensable era proporcional a la ingesta (Titgemeyer et al., 1989; Zinn y Owens, 1993). Los suministros calculados de aminoácidos indispensables a alcanzar el intestino delgado y la aparentemente absorción desde el intestino delgado se muestran en la tabla 7, donde los aminoácidos metabolizables son equivalentes al 80% de la fuente intestinal (NRC, 2000). También se muestra en la tabla 7 son los requerimientos teóricos de aminoácidos indispensables. Estos se determinaron por el peso promedio correspondiente en la base y el aumento de peso de novillos en el experimento 1 (NRC, 2000, nivel 1).

En consecuencia, durante el período inicial de 112-d, la formulación de AAM a priori fue acertado y cumplía todos los requisitos de aminoácidos metabolizables. Considerando que con las fuentes convencionales de formulación

(urea), la formulación de metionina y lisina fueron limitadas, aportando 73,5 y 79,2% de los requisitos teóricos, respectivamente. Estas deficiencias fueron asociadas con la disminución observada en GDP, aumento de eficiencia y EN estimada de la dieta.

Durante los períodos posteriores (d 112 d 308), cuando todos los novillos recibieron la misma dieta a base de urea, fuentes extrapoladas de los aminoácidos metabolizables excedieron los requisitos teóricos. Aunque en promedio general (d1 a d 308) el nivel de aminoácidos metabolizables suministrados a novillos recibir únicamente la dieta UREA excede requisitos teóricos, compensaciones en desempeño de crecimiento no eran suficientes para superar las deficiencias durante el período inicial de 112-d, dando por resultado una disminución de la eficacia de ganancia global y EN de la dieta. Este hallazgo concuerda con Zinn et al. (2007), donde evaluaron distintas estrategias para cumplir los requisitos de aminoácidos metabolizables en novillos Holstein. En ese estudio, la harina de pescado fue la fuente de proteína suplementaria. La harina de pescado es quizás la fuente de proteína que es lo suficientemente alta en metionina metabolizable y lisina para balancear dietas para cumplir requisitos para ganado ligero (NRC, 2000). Sin embargo, debido a la pobre aceptación (palatabilidad), su nivel de inclusión se limita a $\leq 5\%$ de materia seca de la dieta. En este estudio encontramos que la combinación de fuentes de proteína (harina de sangre y granos secos de destilería mas solubles) también pueden ser efectivas en el equilibrio de las dietas para satisfacer los requisitos.

Tabla 7. Suministro extrapolado de los aminoácidos metabolizables indispensables al intestino delgado de los novillos en el experimento 1 en comparación con los requerimientos (NRC, 2000 Level 1).

Item	MAA Balanceado ²		Urea ²		Requerimento NRC, 2000
	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc	0 mg Vmyc	22.5 mg Vmyc	
Aminoácidos metabolizables, g/d					
Días 1 – 112					
Metionina	11.6	11.5	8.6	8.6	11.7
Lisina	42.6	42.2	29.8	29.5	37.4
Histidina	18.4	18.3	10.6	10.5	14.6
Fenilalanina	33.9	33.6	23.5	23.3	20.5
Treonina	31.3	31.1	23.9	23.7	22.8
Leucina	64.5	64.0	45.3	44.9	39.2
Isoleucina	24.5	24.3	21.7	21.5	16.4
Valina	37.5	37.3	24.8	24.5	23.4
Arginina	28.0	27.8	21.4	21.2	19.3
Días 112 – 224					
Metionina	15.0	15.4	15.4	15.2	14.3
Lisina	47.2	48.6	48.6	47.9	45.8
Histidina	16.7	17.2	17.2	17.0	17.9
Fenilalanina	37.3	38.3	38.3	37.8	25.1
Treonina	37.9	39.0	39.0	38.4	27.9
Leucina	71.9	74.0	74.0	72.9	48.0
Isoleucina	34.4	35.4	35.4	34.9	20.0
Valina	39.3	40.4	40.4	39.8	28.6
Arginina	33.9	34.9	34.9	34.4	27.9
Días 224 – 308					
Metionina	17.6	18.2	19.1	17.8	12.5
Lisina	55.5	57.1	60.0	55.9	40.0
Histidina	19.7	20.2	21.3	19.8	15.6
Fenilalanina	43.8	45.1	47.4	44.1	21.9
Treonina	44.6	45.8	48.2	44.9	24.4
Leucina	84.5	86.9	91.4	85.2	41.9
Isoleucina	40.5	41.6	43.8	40.8	17.5
Valina	46.2	47.5	49.9	46.5	25.0
Arginina	39.8	41.0	43.1	40.1	20.6
Días 1 – 308					
Metionina	14.5	14.7	14.3	13.8	12.5
Lisina	47.8	48.6	44.9	43.4	40.0
Histidina	18.2	18.4	15.9	15.4	15.6
Fenilalanina	37.8	38.5	35.4	34.2	21.9
Treonina	37.3	38.0	36.0	34.9	24.4
Leucina	72.7	73.9	68.3	66.1	41.9
Isoleucina	32.5	33.1	32.7	31.6	17.5
Valina	40.5	41.2	37.3	36.1	25.0
Arginina	33.4	34.0	32.2	31.1	20.6

²Suplementación de aminoácidos metabolizables esenciales al intestino delgado de novillos en el experimento 1 extrapolado para experimento 2.

Implicaciones

La suplementación de virginiamicina en dietas basadas en maíz rolado al vapor mejora la eficiencia de utilización de la energía durante todo el período de crecimiento y finalización de engorde a corral, así mismo, el suministro de aminoácidos observados hasta el intestino delgado es una función predecible de formulación de la dieta, basada en NRC, (2000, nivel 1). Su suplementación mejora en eficiencia de la utilización de la energía alimentaria cuando las dietas son equilibradas para cumplir requisitos de aminoácidos metabolizables para novillos Holstein alimentados durante el período de engorda inicial de 112-d.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1986. Official Methods of Analysis. 14th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.
- Bergen W. G., D. B. Purser and J. H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of microbial protein. J. Anim. Sci. 27: 1497-1501.
- Bergen, W. G., and D. B. Bates. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
- Bonfiglio G, and P. M. Furneri. 2003. Patents on streptogramin antibiotics. Expert Opin Ther Patents. 13:651–659.
- Boon B and Dewart R. 1974. Methods for identification and assay of virginiamycin in animal feeds. Analisys. 99, 19-25
- Church D. C. 1993. Ruminant animal: digestive physiology and nutrition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Cocito C. 1979. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. Microbiol. Rev. 43:145-198.
- Coe M. L., T. G. Nagaraja, Y. D. Sun, N. Wallace, E. G. Towne, K. E. Kemp, and J. P. Hutcheson. 1999. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. J. Anim. Sci. 77:2259-2268.
- Costa, A. J., M. Caetano, A. Berndt, J. J. Assumpcao, R. Lemeand, and D. P. Duarte. 2015. Combined use of ionophore and virginiamycin for finishing Nellore steers fed high concentrate diets. Scientia Agr. 70:229-236.

- Clayton, E. H., I. J. Lean, J. B. Rowe, and J. W. Cox. 1999. Effects of feeding virginiamycin and sodium bicarbonate to grazing lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1545-1554.
- Crooy P, R. De Neys. 1972. Virginiamycin: nomenclature. *J Antibiot.* 25:371–372.
- Demeyer, D. I., and C. J. Van Nevel. 1985. Chemical manipulation of rumen metabolism. In L. A. A. Ooms, A. D. Degryse, and R. Marsboom (ed.). *The ruminant stomach*, vol. 1. Janssen Research Foundation, Antwerp, Belgium. p. 227-250.
- De Somer, P., and P. Van Dick. 1955. A preliminary report on antibiotic number 899, a streptogramin-like substance. *Antibiotics & Chemotherapy* 5, 632.
- Dyer, I. A., R. M. Koes, M. L. Herlugson, L. B. Ojikutu, R. L. Preston, P. Zimmer, and R. Delary. 1980. Effect of avoparcina and monensin on performance of finishing heifers. *J. Anim. Sci.* 51:843-846.
- Froetschel, M. A., W. J. Croom, Jr., H. R. Gaskins, E. S. Leonard, and M. D. Whitacre. 1983. Effects of avoparcin on ruminal propionate production and amino acid degradation in sheep fed high and low fiber diets. *J. Nutr.* 113:1355-1362.
- Garcia-Rodríguez J. A. y Picazo J. J. 1998. *Microbiología médica: clínica*. Editorial Harcourt Brace. Madrid, España. Volumen 2, Tema 4. Pag. 31.
- Garrett, W. 1971. Energy efficiency of beef and dairy steers. *J. Anim. Sci.* 31: 452-456.
- Gill, D. R., F. N. Owens, R. W. Fent, and R. K. Fulton. 1979. Thiopeptin and roughage level for feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 49:1145-1150.
- Hansen J. L., P. B. Moore, T. A. Steitz. 2003. Structures of five antibiotics bound at the peptidyl transferase center of the large ribosomal subunit. *J Mol Biol* 330:1061–1075.

- Hedde R. D., D. G. Armstrong, R. C. Parish, and R. Quach. 1980. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. *J. Anim. Sci.* 51(Suppl. 1):366–367.
- Hussein H. S., and L. Berger. 1995. Feedlot performance carcass characteristics of Holstein steers as affected by source of dietary protein and level of ruminally protected lysine and methionine. *J. Anim. Sci.* 73:3503-3509.
- Hill F. N and Anderson D. L. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587-603.
- Hynes S. H., D. M. Kjarsgarrad, K. C. Thomas, and W. M. Ingledew. 1997. Use of virginiamycin to control growth of lactic acid bacteria during alcohol fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18:284-291.
- Ingraham J. L. e Ingraham C. A. 1998. Introducción a la microbiología. Volumen 2. Editorial Reverté, S. A. Barcelona. pág 494.
- Ives S. E., E. C. Titgemeyer, T. G. Nagaraja, A. del Barrio, D. J. Bindel, and L. C. Hollis. 2002. Effects of virginiamycin and monensin plus tylosin on ruminal protein metabolism in steers fed corn-based finishing diets with or without wet corn gluten feed. *J. Anim. Sci.* 80:3005-3015.
- Kennedy P. M., and L. P. Milligan. 1980. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 60:205-221.
- Marini, J. C., D. G. Fox, and M. R. Murphy. 2007. Nitrogen transactions along the gastrointestinal tract of cattle: A meta-analytical approach. *J. Anim. Sci.* 86:660-679.
- May D., J. F. Calderon, V. M. Gonzalez, M. Montano, A. Plascencia, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2014. Influence of ruminal degradable intake protein restriction on characteristics of digestion and growth performance of feedlot cattle during the late finishing phase. *J. Anim. Sci. Tech.* 56:1-7.

- Medina A. J. 2000. Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones. Segunda edición. Ediciones Díaz de Santos. Madrid. Página 3.
- Merchen N. R., and L. L. Berger. 1985. Effect of salinomycin level on nutrient digestibility and ruminal characteristics of sheep and feedlot performance of cattle. J. Anim. Sci.60:1338-1346.
- Montano M. F., O. M. Manriquez, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2014. Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. J. Appl. Anim. Res. 43:417-425.
- Murphey C. E., D. K. Hallett, W. E. Tyler, and J. C. Pierce. 1960. Estimating yields of retail cuts from beef carcasses. Presented at the 62nd Meet. Am. Soc. Anim. Prod., Chicago, IL. November 26, 1960.
- Nagaraja T. G., S.I. Godfrey, S. W. Winslow, J. B. Roweb, and K. E. Kemp. 1995. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in faunated or ciliate-free sheep overfed with barley grain. Small Ruminant Research. 17: 1-8.
- Nagaraja T. G., M. B. Taylor, D. L. Harmon, and J. E. Boyer. 1987. *In vitro* lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. J. Anim. Sci. 65:1064-1076.
- NRC. 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle (6th Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ørskov E. R., N. A. MacLeod, and D. J. Kyle. 1986. Flow of nitrogen from the rumen and abomasum in cattle and sheep given protein-free nutrients by intragastric infusion. Br. J. Nutr. 56:241-248.

- Owens F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 76:275-286.
- Paris J. M., J. C. Barrière, C. Smith, P. E. Bost. 1990. The chemistry of pristinamycins. In: Lukacs G, Ohno M (eds) *Recent progress in the chemical synthesis of antibiotics*. Springer, Berlin Heidelberg New York pp 183–248.
- Porse B. T. and R. A. Garrett. 1999. Sites of interaction of streptogramin A and B. Antibiotics in the peptidyl transferase loop of 23 S rRNA and the synergism of their inhibitory mechanisms. *J Mol Biol* 286:375–387.
- Potter, E. L., C. O. Cooley, and L. F. Richardson. 1979. Effect of narasin upon the performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci. (Suppl. 1)*, 49: 397.
- Preston, R. L. R. H. Pritchard, y G. W. Wolfrom. 1985. Lysocellin effects on the gain-feed intake and efficiency of growing-finishing cattle. *J. Anim. Sci. (Supp. 1)*, 61: 493.
- Rogers J. A., M. E. Branine, C. R. Miller, M. I. Wray, S. J. Bartle, R. L. Preston, D. R. Gill, R. H. Pritchard, R. P. Stilborn, and D. T. Bechtol. 1995. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 73:9-20.
- SAGARPA. INIA-CIANO. 2007. *Guía para la asistencia técnica agrícola:  rea de influencia del CAEMEXI*. ED. CAEMEXI, 2^{da} Ed. Mexicali, B.C. México.
- Salinas-Chavira, J., J. Lenin, E. Ponce, U. Sanchez, N. Torrentera and A. R. Zinn. 2009. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 87:4101-4108.
- Sindt, M. H., R. A. Stock, T. J. Klopfenstein and D. H. Shain. 1993. Effect of protein source and grain type finishing calf performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.* 71:1047-1056.

- Smith M. T., J. W. Gill, H. G. Oltjen, C. A. Dolezal, J. J. Martin, and J. A. Rogers. 1989. The effect of virginiamycin on performance of feedlot cattle. Animal Science Research Report 137.
- Spingler M., R. Stadler, and H. Tanner. 1984. Amino acid analyses of foodstuffs: Determination of methionine and cystine after oxidation with performic acid and hydrolysis. J. Agric. Food Chem. 32:1366-1371.
- Spires, H. R., and J. W. Algeo. 1983. Laidlomycin butyrate-an ionophore with enhanced intraruminal activity. J. Anim. Sci. 57:1553-1560.
- Sugantino M and S. L. Roderick. 2002. Crystal structure of Vat (D). An acetyltransferase that inactivates streptogramin group A antibiotics. Biochemistry 41:2209–2216
- Sumano S. H. S. y C. L. Ocampo. 2006. Farmacología veterinaria. Tercera edición. Editorial Mc Graw Hill.
- Titgemeyer E., N. R. Merchen, L. L. Berger, and L. E. Deetz. 1989. Evaluation of soybean meal, corn gluten meal, blood meal and fish meal as sources of nitrogen and amino acids disappearing from the small intestine of steers. J. Anim. Sci. 67:262-275.
- USDA. 1997. United States Standards for Grading of Carcass Beef. Agricultural Marketing Service, USDA, Washington, DC.
- Van Soest P. J., B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Vasconcelos J. T., and M. L. Galyean. 2007. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionist: The 2007 Texas Tech University survey. J. Anim. Sci. 85:2772-2781.

- Wessels R. H., E. C. Titgemeyer, and G. St. Jean. 1997. Effect of amino acid supplementation on whole-body protein turnover in Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 75: 3066-3073.
- Wolin M. J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452-1459.
- Zinn, R. A. 1988. Crude protein and amino acid requirements of growing-finishing Holstein steers gaining 1.43 kilograms per day. *J. Anim. Sci.* 66: 1755-1763.
- Zinn, R. A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 68:767-775.
- Zinn R. A., and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71:11-17.
- Zinn R. A. and F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.
- Zinn R. A., and F. N. Owens. 1993. Ruminal escape protein for lightweight feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 71:1677-1687.
- Zinn R.A., and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 76: 1280-1289.
- Zinn R. A., L. Corona, and A. Plascencia. 2005. Fat and protein supplementation of calf – fed Holstein steer. *Proc. Managing and Marketing Quality Holstein Steers.* Rochester MN, pp. 89-93.
- Zinn R. A., J. F. Calderon, L. Corona, A. Plascencia, M. F. Montaña, and N. Torrentera. 2007. Phase feeding strategies to meet metabolizable amino acids requirements of calf-fed Holstein steer. *Professional Animal Scientist.* 23: 333-339.

ANEXOS



Influence of Feeding Enzymatically Hydrolyzed Yeast Cell Wall on Growth Performance and Digestive Function of Feedlot Cattle during Periods of Elevated Ambient Temperature

J. Salinas-Chavira*, C. Arzola¹, V. González-Vizcarra², O. M. Manríquez-Núñez², M. F. Montaña-Gómez², J. D. Navarrete-Reyes², C. Raymundo², and R. A. Zinn³

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas,
Cd. Victoria, Tamaulipas 87000, México

ABSTRACT: In experiment 1, eighty crossbred steers (239±15 kg) were used in a 229-d experiment to evaluate the effects of increasing levels of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) cell wall in diets on growth performance feedlot cattle during periods of elevated ambient temperature. Treatments consisted of steam-flaked corn-based diets supplemented to provide 0, 1, 2, or 3 g EHY/hd/d. There were no effects on growth performance during the initial 139-d period. However, from d 139 to harvest, when 24-h temperature humidity index averaged 80, EHY increased dry matter intake (DMI) (linear effect, $p < 0.01$) and average daily gain (ADG) (linear effect, $p = 0.01$). There were no treatment effects ($p > 0.10$) on carcass characteristics. In experiment 2, four Holstein steers (292±5 kg) with cannulas in the rumen and proximal duodenum were used in a 4×4 Latin Square design experiment to evaluate treatments effects on characteristics of ruminal and total tract digestion in steers. There were no treatment effects ($p > 0.10$) on ruminal pH, total volatile fatty acid, molar proportions of acetate, butyrate, or estimated methane production. Supplemental EHY decreased ruminal molar proportion of acetate ($p = 0.08$), increased molar proportion of propionate ($p = 0.09$), and decreased acetate:propionate molar ratio ($p = 0.07$) and estimated ruminal methane production ($p = 0.09$). It is concluded that supplemental EHY may enhance DMI and ADG of feedlot steers during periods of high ambient temperature. Supplemental EHY may also enhance ruminal fiber digestion and decrease ruminal acetate:propionate molar ratios in feedlot steers fed steam-flaked corn-based finishing diets. (**Key Words:** Yeast, Growth Performance, Digestion, Cattle)

INTRODUCTION

Temperature-Humidity index (THI; Mader et al., 2006) greater than 74 is considered stressful for cattle. This condition is prevalent during much of the summer months throughout the desert southwestern United States of

America. This heat load causes a reduction in energy intake (Young and Hall, 1993; Hahn, 1994) and hence, average daily gain (ADG) and gain efficiency (Blackshaw and Blackshaw, 1994; Hubbard et al., 1999). Additionally, heat stress alters endocrine profiles and energy metabolism of cattle (Rhoads et al., 2009).

In dairy cattle, supplementation with yeast and/or yeast cell wall components has been associated with reduction of negative impact of heat stress on cattle that has improved milk yield, enhanced immune status, and reduced incidence of mastitis and somatic cell counts (Nocek et al., 2011; Liu et al., 2014). Likewise, supplementation improved health status and immune response, reducing physiological and acute phase responses of cattle exposed to endotoxin challenge (Lowry et al., 2005; Li et al., 2006; Chae et al.,

* Corresponding Author: J. Salinas-Chavira. Tel: +52-8343073 376, E-mail: jsalinasc@hotmail.com

¹ Facultad de Zootecnia, UACH, Chihuahua, Chihuahua 31000, México.

² Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, UABC, Mexicali, Baja California 21100, México.

³ Department of Animal Science, University of California, Davis 95616, USA.

Submitted Jan. 24, 2015; Revised Feb. 17, 2015; Accepted Mar. 20, 2015

2006; Sanchez et al., 2013; 2014). With respect to digestion, supplementation may also enhance ruminal pH and ruminal fiber digestion (Beauchemin et al., 2003). There is very limited information regarding the effects of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) cell wall components on growth performance of feedlot cattle, particularly during period of high ambient temperature to which a majority of feedlot cattle will be exposed during some portion of the growing-finishing period. The objective of present research was to evaluate influence of supplementing EHY on growth performance and digestive function of feedlot cattle during periods of elevated ambient temperature.

MATERIALS AND METHODS

All procedures involving animal care and management were in accordance with and approved by the University of California, Davis, Animal Use and Care Committee.

Experiment 1, influence of enzymatically hydrolyzed yeast on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics

Eighty crossbred steers (approximately 25% Brahman with the remainder represented by Hereford, Angus, Shorthorn and Charolais breeds in various proportions) with an average weight of 239 ± 15 kg were used in a 229-d experiment to evaluate the effects of EHY cell wall (TruMax, Vi-COR, Mason City, IA, USA) supplementation on growth performance, dietary net energy, and carcass characteristics of feedlot cattle. Upon arrival, steers were vaccinated for bovine rhinotracheitis-parainfluenza (Cattle Master Gold FP 5 L5, Zoetis, New York, NY, USA), clostridials (Ultrabac-7, Zoetis, USA), treated for parasites (Dectomax Injectable, Zoetis, USA), injected subcutaneously with 500,000 IU vitamin A (Vital E-A + D3, Stuart Products, Bedford, TX, USA), and 1,200 mg ceftiofur (Excede, Zoetis, USA), branded, ear-tagged, and implanted with Revalor-IS (Intervet, Millsboro, DE, USA). Bull calves were castrated and horns, if present, were tipped. Steers were blocked by weight and randomly assigned within weight groupings to 16 pens (4 pens per treatment; 5 steers per pen). Pens were 43 m^2 with 22 m^2 of overhead shade, automatic waterers, and 2.4 fence-line feed bunks. Treatments consisted of steam-flaked corn-based diets supplemented to provide 0, 1, 2, or 3 g EHY/hd/d. Ingredient and nutrient composition of diets are shown in Table 1. Diets were prepared at weekly intervals and stored in plywood boxes located in front of each pen. Steers were allowed *ad libitum* access to their experimental diets. Fresh feed was provided twice daily. Individual steers were weighed upon initiation and at periods of 28-d until completion of the 229-d trial. In the calculation of steer performance live weights were reduced 4% to adjust for

digestive tract fill. Estimates of steer performance were based on pen means. Readings of daily ambient temperature and humidity during the course of the study were obtained from the California Department of Water Resources Information and Management System (CIMIS) weather station located roughly 100 meters distance from the feedlot.

Energy gain (EG) was calculated by the equation: $EG = ADG^{1.097} 0.0557 W^{0.75}$, where EG is the daily-energy-deposited (Mcal/d), W is the mean shrunk body weight (BW) (kg; NRC, 1984). Maintenance energy (EM) was calculated by the equation: $EM = 0.077W^{0.75}$ (NRC, 1996). Dietary net energy of gain (NEg) was derived from net energy of maintenance (NEm) by the equation: $NEg = 0.877 NEm - 0.41$ (Zinn and Shen, 1998). Dry matter intake (DMI) is related to energy requirements and dietary NEm according to the equation: $DMI = EM / (NEm + EG / (0.877 NEm - 0.41))$, and can be resolved for estimation of dietary NEm by means of the quadratic formula: $x = (-b \pm [b^2 - 4ac]^{0.5}) / 2a$, where $x = NEm$, $a = -0.877 DMI$, $b = 0.877 EM + 0.41 DMI + EG$, and $c = -0.42 EM$ (Zinn and Shen, 1998).

Hot carcass weights (HCW) were obtained at time of slaughter. After carcasses chilled for 48 h, the following measurements were obtained: LM area (cm^2) by direct grid reading of the *Longissimus* muscle (LM) at the 12th rib; subcutaneous fat (cm) over the LM at the 12th rib taken at a location 3/4 the lateral length from the chine bone end (adjusted by eye for unusual fat distribution); kidney, pelvic and heart fat (KPH), as a percentage of HCW; marbling score (USDA 1997; using 3.0 as minimum slight, 4.0 as minimum small, 5.0 as minimum modest, 6.0 as minimum moderate, etc.), and estimated retail yield of boneless, closely trimmed retail cuts from the round, loin, rib and chuck (% of HCW; Murphey et al., 1960) = $52.56 - 1.95 \times \text{subcutaneous fat} - 1.06 \times \text{KPH} + 0.106 \times \text{LM area} - 0.018 \times \text{HCW}$.

For calculating steer performance, initial BW is the arrival off-truck shrunk weight. Interim and final LW was reduced 4% to account for digestive tract fill. Final shrunk LW was adjusted for HCW by dividing HCW by the decimal fraction of the average dressing percentage (0.64). Pens were used as experimental units. The experimental data were analyzed as a randomized complete block design experiment according to the following statistical model:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + E_{ij}$$

Where μ is the common experimental effect, B_i represents initial weight group effect (df = 3), T_j represents dietary treatment effect (df = 3), and E_{ij} represents the residual error (df = 9). Treatments effects were tested using the following contrasts: 0 vs EHY, and linear and quadratic polynomials (Stastix 9, Analytical Software, Tallahassee,

FL, USA).

Experiment 2, influence of enzymatically hydrolyzed yeast on digestive function of steers

Four Holstein steers (264±5 kg) with cannulas in the rumen (3.8 cm internal diameter) and proximal duodenum (Zinn and Plascencia, 1993) were used in a 4×4 Latin square experiment to evaluate the influence of EHY (TruMax, Vi-COR, USA) supplementation-level in finishing diets for steers based on steam-flaked corn and distillers dried gains plus solubles on characteristics of rumen and total tract digestion. Dietary treatments were the same as indicated for the finishing diet used in Trial 1 (Table 1) plus the inclusion of chromic oxide (2.5 g/kg) as a digesta marker. Steers were maintained in individual pens (5.6 m²) with automatic waterers. Diets were fed at 08:00 and 20:00 h daily. In order to avoid the complications of feed refusals, DMI was restricted to 6.02 kg/d (2.3% of BW). Experimental periods were 14 d, with 10 d for dietary

treatment adjustment, 4 d for collection. During collection, duodenal and fecal samples were taken twice daily as follows: day 1, 0750 and 1350 h; day 2, 0900 and 1500 h; day 3, 1050 and 1650 h, and day 4, 1200 and 1800 h. Individual samples consisted of approximately 700 mL of duodenal chyme and 200 g (wet basis) of fecal material. Samples from each steer within each collection period were composited for analysis. During the final day of each collection period, ruminal samples were obtained from each steer via ruminal cannula 4 h after feeding. Ruminal fluid pH was determined on fresh samples. Samples were strained through 4 layers of cheesecloth. Two milliliters of freshly prepared (25 g/100 mL) meta-phosphoric acid was added to 8 mL of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuged (17,000×g for 10 min), and supernatant fluid was stored at -20°C for volatile fatty acid (VFA) analysis (gas chromatography; Zinn, 1988). Upon completion of the experiment, ruminal fluid was obtained via the ruminal cannula from all steers and composited for isolation of

Table 1. Composition of experimental diets fed to steers¹

Item	Diets (% DM basis)			
	Receiving ²	Transition 1 ³	Transition 2 ⁴	Finishing ^{5,6}
Alfalfa, hay	20.0	10	5.0	0.0
Sudangrass hay	12.0	12.0	12.0	12.0
Steam-flaked corn	36.31	45.63	52.24	57.73
Distillers dried gains+solubles	20.0	20.0	20.0	20.0
Tallow	2.0	2.0	2.0	2.3
Cane molasses	8.0	8.0	6.0	5.0
Limestone	0.73	1.2	1.49	1.6
Urea	0.45	0.65	0.75	0.85
Magnesium oxide	0.10	0.10	0.10	0.10
Trace mineral salt ⁷	0.40	0.40	0.40	0.40
Rumensin	0.014	0.017	0.017	0.017
Nutrient composition (DM basis) ⁸				
NE (Mcal/kg)				
Maintenance	1.97	2.06	2.11	2.17
Gain	1.33	1.40	1.15	1.51
Crude protein (g/kg)	16.02	15.48	15.28	15.03
Ether extract (g/kg)	6.4	6.51	6.65	7.04
Calcium (g/kg)	0.80	0.80	0.80	0.75
Magnesium (%)	0.30	0.30	0.29	0.29
Phosphorus (g/kg)	0.37	0.38	0.38	0.39
NDF	28.79	25.43	23.92	22.32

DM, dry matter; NE, net energy; NDF, neutral detergent fiber; EHY, enzymatically hydrolyzed yeast.

¹ Diets were supplemented to provide for an average estimated intake of 0, 1, 2, or 3 g/hd/d of EHY (TruMax, Vi-COR, Mason City, IA, USA) during respective feeding periods.

² Receiving diet (fed from d 1 to d 28) supplemented with 0, 171.8, 343.5, or 515.3 mg/kg EHY (DM basis).

³ Transition 1 diet (fed from d 28 to d 35) supplemented with 0, 147.5, 295.0, or 201.1 mg/kg EHY (DM basis).

⁴ Transition 2 diet (fed from d 35 to d 42) supplemented with 0, 138.5, 277.0, or 415.5 mg/kg EHY (DM basis).

⁵ Finishing diet (fed from d 42 to d 229) supplemented with 0, 116.0, 232.0, or 348.0 mg/kg EHY (DM basis).

⁶ Chromic oxide (0.40%) was added as digesta marker in experiment 2.

⁷ Trace mineral salt contained: CoSO₄, 0.068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 0.75%; MnSO₄, 1.07%; KI, 0.052%; NaCl, 93.4%.

⁸ Based on tabular values for individual feed ingredients (NRC, 1984) with exception of supplemental fat which was assigned NE_m and NE_g values of 6.03 and 4.79 Mcal/kg, respectively (Zinn, 1988).

ruminal bacteria by differential centrifugation (Bergen et al., 1968).

Feed and fecal samples were subjected to the following analysis: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss); ash (method 942.05, AOAC, 1986), Kjeldahl N (method 984.13, AOAC, 2000); aNDFom (Van Soest et al., 1991), corrected for neutral detergent fiber (NDF)-ash, incorporating heat stable α -amylase (Ankom FAA, Ankom Technology, Macedon, NY, USA) at 1 mL per 100 mL of NDF solution); chromic oxide (Hill and Anderson, 1958); and starch (Zinn, 1990). Duodenal samples were subjected to the following analysis: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss); ash (method 942.05, AOAC, 1986), Kjeldahl N (method 984.13, AOAC, 2000), ammonia N (method 941.04, AOAC, 2000); aNDFom (Van Soest et al., 1991), corrected for NDF-ash, incorporating heat stable α -amylase (Ankom FAA, Ankom Technology, USA) at 1 mL per 100 mL of NDF solution); purines (Zinn and Owens, 1986); chromic oxide (Hill and Anderson, 1958); and starch (Zinn, 1990). Duodenal flow and fecal excretion of DM were calculated based on marker ratio, using chromic oxide. Microbial organic matter (MOM) and N (MN) leaving the abomasum was calculated using purines as a microbial marker (Zinn and Owens, 1986). Organic matter (OM) fermented in the rumen was considered equal to OM intake minus the difference between the amount of total OM reaching the duodenum and MOM reaching the duodenum. Feed N escape to the small intestine was considered equal to total N leaving the abomasum minus ammonia-N, MN, and endogenous N ($0.195 \times BW^{0.75}$, Ørskov et al., 1986). Methane production (mol/mol glucose equivalent fermented) was estimated based on the theoretical fermentation balance for observed molar distribution of VFA (Wolin, 1960).

The effects of EHY cell wall level (0, 1, 2, or 3 g EHY/hd/d) on characteristics of digestion in cattle were analyzed as a balanced 4×4 Latin square design experiment:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + T_k + E_{ijk},$$

Where, Y_{ijk} is the response variable, μ is the common experimental effect, S_i is the steer effect, P_j is the period effect, T_k is the treatment effect and E_{ijk} is the residual error. Treatment effects were tested using the following contrasts: 0 vs EHY, and linear and quadratic polynomials (Stastix 9, Analytical Software, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Experiment 1, influence of enzymatically hydrolyzed yeast on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics

Treatment effects on growth performance are shown in Table 2. There were no effects on growth performance

during the initial 139-d period. However, from d-139 to harvest, when 24-h temperature humidity index averaged 80, EHY increased DMI (linear effect, $p < 0.01$) and ADG (linear effect, $p = 0.01$). This improvement in ADG was largely due to increased DMI, as gain efficiency and estimated dietary NE were not affected by EHY supplementation (Table 2). Comparable studies evaluating effects of EHY on feedlot cattle growth-performance are limited. In a 56-d feeding trial, Finck et al. (2010) observed increased ADG associated with increased DMI in feedlot steers fed a receiving diet supplemented to provide 5 g/d yeast cell wall. In a 50-d feeding trial, Lei et al. (2013) observed increased ADG and gain efficiency in feedlot steers fed 2 g/d of a yeast cell wall product.

Considering supplemental yeast, per se, Hinman et al. (1998) in a 115-d trial observed greater ADG and gain efficiency in feedlot steers supplemented with yeast. In contrast, Swyers et al. (2014) did not observe an effect of supplemental yeast on in a 125-d feedlot growth performance of yearling steers. Likewise, Baumann et al. (2004) observed no advantage of yeast supplementation on 126-d ADG and gain efficiency of growing-finishing feedlot steers.

Observed variation in growth-performance response to EHY supplementation as affected by periods of unfavorable ambient conditions, may be more particularly a function of immune status (Swyers et al., 2014). Heat stress alters endocrine profiles and energy metabolism in cattle (Rhoads et al., 2009). Supplemental EHY can modulate immune status (Nocek et al., 2011; Lei, et al., 2013; Sanchez et al., 2013; 2014). Sanchez et al. (2014) observed that in beef heifers newly-received into the feedlot, supplementation with yeast cell wall enhanced energy metabolism during an immune challenge. Ganner et al. (2010) observed that yeast derivatives (cell walls) had a selective effect against some pathogenic bacteria. Reisinger et al. (2012) observed that yeast cell wall supplementation increased jejunal goblet cell density, reducing the number of apoptotic enterocytes. Lei et al. (2013) observed that yeast cell wall can effectively bind lipopolysaccharides within the intestine, preventing translocation into the circulation.

Liu et al. (2014) observed that yeast supplementation improved milk yield and immune response of dairy cows under conditions of heat stress. Temperature-humidity index ($THI = [0.8 \times \text{ambient temperature}] + [\{\% \text{ of relative humidity} / 100\} \times \{\text{ambient temperature} - 14.4\}] + 46.4$), a measure of heat load, is coded as follows: normal, $THI < 74$; alert, $75 < THI < 78$; danger, $79 < THI < 83$; and emergency, $THI > 84$ (Mader et al., 2006). In the present study, enhancements in DMI and ADG during the period of high THI may indicate a potential role of EHY in association with heat stress.

Consistent with overall treatment effects on ADG and

Table 2. Influence of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) supplementation on growth-performance of crossbred feedlot steers

Item	EHY (g/steer/d)				SEM	p-value		
	0	1	2	3		0 vs EHY	Linear	Quadratic
Pen replications	5	5	5	5				
Body weight (kg) ¹								
Initial	235.0	233.9	235.0	234.5	0.3			
139 d	467.2	457.4	460.1	470.7	10.5	0.73	0.77	0.88
229 d (Final)	550.2	545.2	548.4	566.3	12.0	0.82	0.36	0.91
ADG (kg/d)								
1 to 139 d	1.67	1.61	1.63	1.70	0.07	0.76	0.77	0.94
139 to 229 d	0.92	0.98	0.97	1.06	0.03	0.04	0.01	0.29
1 to 229 d	1.38	1.36	1.37	1.45	0.05	0.80	0.35	0.86
DMI (kg/d)								
1 to 139 d	7.75	7.69	7.49	7.72	0.17	0.58	0.73	0.49
139 to 229 d	8.00	7.98	8.38	8.40	0.10	0.07	<0.01	0.12
1 to 229 d	7.85	7.80	7.84	7.99	0.14	0.88	0.49	0.96
ADG/DMI								
1 to 139 d	0.215	0.209	0.217	0.220	0.006	0.99	0.42	0.48
139 to 229 d	0.115	0.123	0.116	0.126	0.004	0.20	0.17	0.12
1 to 229 d	0.175	0.174	0.175	0.181	0.004	0.80	0.38	0.81
Dietary NE (Mcal/kg)								
1 to 139 d maintenance	2.17	2.12	2.19	2.20	0.04	0.96	0.36	0.31
1 to 139 d gain	1.49	1.45	1.51	1.52	0.03	0.96	0.36	0.31
139 to 229 d maintenance	2.06	2.10	2.02	2.12	0.04	0.75	0.66	0.15
130 to 229 d gain	1.40	1.43	1.36	1.45	0.04	0.75	0.66	0.15
1 to 229 d maintenance	2.10	2.09	2.10	2.15	0.04	0.82	0.40	0.86
1 to 229 d gain	1.43	1.43	1.43	1.47	0.03	0.82	0.40	0.86

SEM, standard error of the mean; ADG, average daily gain; DMI, dry matter intake; NE, net energy.

¹ Initial weight is off-truck arrival weight. Interim and final weights reduced 4% to account for fill.

final harvest weight, there were no treatment effects ($p>0.10$) on carcass characteristics (Table 3). Comparable studies involving yeast cell wall are limited. With regard to yeast supplementation, per se, Hinman et al. (1998) and Baumann et al. (2004) did not observe an effect of supplemental yeast on carcass characteristics of feedlot steers. Gomes et al. (2009) observed that supplemental yeast increased carcass dressing percentage, but did not without effect on other carcass measures. Swyers et al. (2014) observed that supplemental yeast increased the proportion of carcass that graded USDA Choice or better.

Experiment 2, influence of enzymatically hydrolyzed yeast on digestive function of steers

Treatment effects on characteristics of digestion are shown in Table 4. There were no treatment effects ($p>0.10$) on ruminal digestion of OM, starch, feed-N, microbial efficiency (g microbial N/kg OM fermented) and N efficiency (non-ammonia N entering the small intestine/N intake). Ruminal digestion of NDF tended to increase (linear effect; $p = 0.08$) with the increasing level of EHY, reflecting a stimulatory effect of EHY on cellulase activity (Kmet et al., 1992). There were no treatment effects ($p>0.10$) on total tract digestion of DM, OM, NDF, starch, and N.

Table 3. Influence of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) supplementation on carcass characteristics of feedlot steers

Item	EHY (g/steer/d)				SEM	p-value		
	0	1	2	3		0 vs EHY	Linear	Quadratic
Pen replications	5	5	5	5				
HCW	357.9	356.4	353.3	364.3	6.6	0.99	0.60	0.60
Dressing percentage	65.0	65.4	64.4	64.4	0.6	0.65	0.29	0.43
Fat thickness (cm)	1.46	1.37	1.33	1.24	0.13	0.35	0.25	0.85
KPH (%)	2.56	2.71	2.86	2.58	0.07	0.11	0.55	0.24
LM area (cm ²)	85.4	84.3	81.4	80.9	2.9	0.64	0.23	0.93
Yield grade (%)	49.3	49.3	49.1	49.2	0.4	0.82	0.70	0.76

SEM, standard error of the mean; HCW, hot carcass weights; KPH, kidney, pelvic and heart fat, as a percentage of HCW; LM, *Longissimus* muscle.

Table 4. Influence of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) supplementation on characteristics of ruminal and total tract digestion

Item	EHY (g/steer/d)				SEM	p value		
	0	1	2	3		0 vs EHY	Linear	Quadratic
Intake (g/d) ¹								
Dry matter	6,015	6,016	6,017	6,018				
Organic matter	5,637	5,638	5,639	5,640				
NDF	1,227	1,227	1,228	1,228				
Starch	2,937	2,938	2,938	2,939				
Nitrogen	136	136	136	136				
Flow to duodenum (g/d)								
Organic matter	2,874	2,894	2,981	2,901	75	0.58	0.63	0.53
NDF	724	718	661	665	25	0.18	0.08	0.86
Starch	343	323	387	376	41	0.70	0.41	0.92
Nitrogen	147	145	157	144	4.9	0.80	0.89	0.32
Microbial N	89.2	84.8	91.9	86.8	2.6	0.67	0.99	0.90
Ammonia N	6.47	5.61	6.09	6.07	0.4	0.24	0.67	0.29
Non ammonia N	140	139	150	138	4.9	0.72	0.87	0.29
Feed N	51.2	54.3	58.7	50.9	3.8	0.47	0.84	0.20
Ruminal digestion (%)								
Organic matter	64.83	63.71	63.43	63.96	1.34	0.49	0.65	0.56
NDF	41.00	41.48	46.13	45.87	2.01	0.18	0.08	0.86
Starch	88.32	89.00	86.82	87.22	1.39	0.70	0.41	0.92
Feed N	62.29	60.04	56.79	62.52	2.80	0.49	0.84	0.20
Microbial efficiency ²	24.43	23.65	25.81	24.14	0.76	0.91	0.71	0.58
N efficiency ³	1.03	1.02	1.11	1.01	0.04	0.73	0.88	0.29
Fecal excretion (g/d)								
Dry matter	1,285	1,205	1,308	1,200	36	0.30	0.38	0.71
Organic matter	1,117	1,043	1,143	1,033	66	0.29	0.34	0.61
NDF	630	615	654	549	28	0.49	0.16	0.16
Starch	20.2	16.9	23.1	16.2	2.8	0.66	0.66	0.56
Nitrogen	33.2	30.7	34.2	31.9	1.1	0.50	0.97	0.93
Total tract digestion (%)								
Dry matter	78.64	79.98	78.26	80.06	0.60	0.30	0.38	0.71
Organic matter	80.18	81.50	79.73	81.68	0.58	0.28	0.33	0.61
NDF	48.66	49.91	46.75	55.26	2.30	0.49	0.16	0.16
Starch	99.31	99.43	99.21	99.45	0.10	0.99	0.68	0.59
Nitrogen	75.58	77.41	74.81	76.51	0.79	0.76	0.96	0.93

SEM, standard error of mean; NDF, neutral detergent fiber.

¹ Dry matter intake was restricted to 2.2% of body weight.² Microbial nitrogen, g/kg organic matter fermented.³ Non-ammonia nitrogen flow to the small intestine as a fraction of nitrogen intake.

Comparable studies evaluating effects of supplemental EHY on characteristics of digestion are limited. Lei et al. (2013) observed increased fiber digestion in steers supplemented with yeast cell walls. Indeed, enhanced fiber digestion has been a consistent response to yeast supplementation, per se, across a variety of diets and feeding practices (Dawson et al., 1990; Williams et al., 1991; Zinn and Borquez, 1993; Plata et al., 1994; López-Soto et al., 2013). Nevertheless, as fiber comprises a comparatively small component of the conventional finishing diets, effects of supplementation on total tract digestion were small and non-appreciable.

Treatment effects on characteristics of ruminal fermentation are shown in Table 5. There were no treatment effects ($p > 0.10$) on ruminal pH, total VFA, or molar proportion of butyrate. Consistent with the present study, Baumann et al. (2004) and Lopez-Soto et al. (2013) did not observe an effect of supplemental yeast on ruminal pH. In contrast, Vyas et al. (2014) observed an increase in ruminal pH with yeast supplementation of feedlot diet. Although, as in the present study, yeast supplementation did not affect ruminal VFA concentration.

Supplemental EHY decreased ruminal molar proportion of acetate ($p = 0.08$), increased molar proportion of

Table 5. Influence of enzymatically hydrolyzed yeast (EHY) supplementation on characteristics of ruminal fermentation

Item	EHY (g/steer/d)				SEM	p value		
	0	1	2	3		0 vs EHY	Linear	Quadratic
Ruminal pH	5.93	5.95	6.11	5.80	0.10	0.87	0.61	0.16
Total VFA	101.6	99.5	88.9	94.3	7.2	0.42	0.36	0.63
Ruminal VFA (mol/100 mol)								
Acetate	61.6	56.3	54.8	58.1	2.1	0.08	0.25	0.09
Propionate	26.9	34.4	35.9	33.4	3.2	0.09	0.20	0.17
Butyrate	11.5	9.3	9.3	8.5	1.3	0.16	0.19	0.62
Acetate/propionate	2.46	1.68	1.54	1.81	0.31	0.07	0.18	0.14
Methane ¹	0.53	0.44	0.42	0.46	0.04	0.09	0.22	0.15

SEM, standard error of mean; VFA, volatile fatty acids.

¹ Methane, mol/mol glucose equivalent fermented.

propionate ($p = 0.09$), and decreased acetate:propionate molar ratio ($p = 0.07$) and estimated ruminal methane production ($p = 0.09$). A similar effect on ruminal acetate:propionate supplementation has been observed with yeast supplementation, per se (Williams et al., 1991; Plata et al., 1994; Hinman et al., 1998).

CONCLUSION

Supplemental EHY may enhance DMI and ADG of feedlot steers during periods of high ambient temperature. Supplemental EHY may also enhance ruminal fiber digestion and decrease ruminal acetate:propionate molar ratios in feedlot steers fed steam-flaked corn-based finishing diets.

REFERENCES

- AOAC. 1986. Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Baumann, T. A., A. E. Radunz, G. P. Lardy, V. L. Andersons, J. S. Caton, and M. L. Bauer. 2004. Effects of tempering and a yeast-enzyme mixture on intake, ruminal fermentation, *in situ* disappearance, performance, and carcass traits in steers fed barley-based diets. *Prof. Anim. Sci.* 20:178-184.
- Beauchemin, K. A., W. Z. Yang, D. P. Morgavi, G. R. Ghorbani, W. Kautz, and J. A. Z. Leedle. 2003. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81:1628-1640.
- Bergen, W. G., D. B. Purser, and J. H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27:1497-1501.
- Blackshaw, J. K. and A. W. Blackshaw. 1994. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: A review. *Aust. J. Exp. Agric.* 34:285-295.
- Chae, B. J., J. D. Lohakare, W. K. Moon, S. L. Lee, Y. H. Park, and T. W. Hahn. 2006. Effects of supplementation of beta-glucan on the growth performance and immunity in broilers. *Res. Vet. Sci.* 80:291-298.
- Dawson, K. A., K. E. Newman, and J. A. Boling. 1990. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *J. Anim. Sci.* 68:3392-3398.
- Finck, D., S. Parr, T. R. Young, J. A. Carroll, J. Corley, A. Estefan, and B. Johnson. 2010. Interactive effects of yeast and yeast cell wall material on feedlot performance during the receiving period of stressed beef cattle. *J. Anim. Sci.* 88(E-Supplement 2):383 (abstract).
- Ganner, A., C. Stoiber, D. Wieder, and G. Schatzmayr. 2010. Quantitative *in vitro* assay to evaluate the capability of yeast cell wall fractions from *Trichosporon mycotoxinivorans* to selectively bind gram negative pathogens. *J. Microbiol. Methods* 83:168-174.
- Gomes, R. C., P. R. Leme, S. L. Silva, M. T. Antunes, and C. F. Guedes. 2009. Carcass quality of feedlot finished steers fed yeast, monensin, and the association of both additives. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61:648-654.
- Hill, F. N. and D. L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587-603.
- Hinman, D. D., S. J. Sorensen, and P. A. Momont. 1998. Effect of yeast culture on steer performance, apparent diet digestibility, and carcass measurements when used in a barley and potato finishing diet. *Prof. Anim. Sci.* 14:173-177.
- Hubbard, K. G., D. E. Stookesbury, G. L. Hahn, and T. L. Mader. 1999. A climatological perspective on feedlot cattle performance and mortality to the Temperature-Humidity index. *J. Prod. Agric.* 12:650-653.
- Kmet, V., Z. Jonecova, and M. Stachova. 1992. The effect of pectynolitic yeasts on rumen microflora. *J. Anim. Feed Sci.* 1:165-170.
- Lei, C. L., G. Z. Dong, L. Jin, S. Zhang, and J. Zhou. 2013. Effects of dietary supplementation of montmorillonite and yeast cell wall on lipopolysaccharide adsorption, nutrient digestibility and growth performance in beef cattle. *Livest. Sci.* 158:57-63.
- Li, J., D. F. Li, J. J. Xing, Z. B. Cheng, and C. H. Lai. 2006. Effects of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.* 84:2374-2381.
- Liu, J., G. Ye, Y. Zhou, Y. Liu, L. Zhao, Y. Liu, X. Chen, D. Huang, S. F. Liao, and K. Huang. 2014. Feeding glycerol-enriched yeast culture improves performance, energy status, and heat

- shock protein gene expression of lactating Holstein cows under heat stress. *J. Anim. Sci.* 92:2494-2502.
- López-Soto, M. A., Y. S. Valdés-García, A. Plascencia, A. Barreras, B. I. Castro-Perez, A. Estrada-Angulo, F. G. Ríos, A. Gómez-Vazquez, L. Corona, and R. A. Zinn. 2013. Influence of feeding live yeast on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in steers fed a steam-flaked corn-based diet. *Acta Agric. Scand., Section A – Anim. Sci.* 63:39-46.
- Lowry, V. K., M. B. Farnell, P. J. Ferro, C. L. Swaggerty, A. Bahl, and M. H. Kogut. 2005. Purified beta-glucan as an abiotic feed additive up-regulates the innate immune response in immature chickens against *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. *Int. J. Food Microbiol.* 98:309-318.
- Mader, T. L., M. S. Davis, and T. Brown-Brandl. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84:712-719.
- Murphey, C. E., D. K. Hallett, W. E. Tyler, and J. C. Pierce Jr. 1960. Estimating yields of retail cuts from beef carcasses. Paper presented at the 62nd meeting of the American Society of Animal Production, Chicago, IL, USA.
- Nocek, J. E., M. G. Holt, and J. Oppy. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94:4046-4056.
- NRC. 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle, 6th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle, 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ørskov, E. R., N. A. MacLeod, and D. J. Kyle. 1986. Flow of nitrogen from the rumen and abomasum in cattle and sheep given protein-free nutrients by intragastric infusion. *Br. J. Nutr.* 56:241-248.
- Plata, P. F., M. Mendoza, J. R. Barcena-Gama, and M. S. Gonzalez. 1994. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49:203-210.
- Reisinger, N., A. Gannera, S. Masching, G. Schatzmayr, and T. J. Applegate. 2012. Efficacy of a yeast derivative on broiler performance, intestinal morphology and blood profile. *Livest. Sci.* 143:195-200.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, R. J. Collier, S. R. Sanders, W. J. Weber, B. A. Crooker, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92:1986-1997.
- Sanchez, N. C. B., T. R. Young, J. A. Carroll, J. R. Corley, R. J. Rathmann, and B. J. Johnson. 2013. Yeast cell wall supplementation alters aspects of the physiological and acute phase responses of crossbred heifers to an endotoxin challenge. *Innate Immun.* 19:411-419.
- Sanchez, N. C. B., T. R. Young, J. A. Carroll, J. R. Corley, R. J. Rathmann, and B. J. Johnson. 2014. Yeast cell wall supplementation alters the metabolic responses of crossbred heifers to an endotoxin challenge. *Innate Immun.* 20:104-112.
- Swyers, K. L., J. J. Wagner, K. L. Dorton, and S. L. Archibeque. 2014. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product as an alternative to monensin on growth performance, cost of gain, and carcass characteristics of heavy-weight yearling beef steers. *J. Anim. Sci.* 92:2538-2545.
- USDA. 1997. United States Standards for Grading of Carcass Beef. Washington (DC): Agricultural Marketing Service, USDA.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Vyas, D., A. Uwizye, R. Mohammed, W. Z. Yang, N. D. Walker, and K. A. Beauchemin. 2014. The effects of active dried and killed dried yeast on subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 92:724-732.
- Williams, P. E.V., C. A. G. Tait, G. M. Innes, and C. J. Newbold. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim. Sci.* 69:3016-3026.
- Wolin, M. J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452-1459.
- Young, B. A. and A. B. Hall. 1993. Heat load in cattle in the Australian environment. In: Australian Beef (Ed. B. Coombs). Morescope Pty Ltd., Melbourne, Victoria, Australia. pp. 143-148.
- Zinn, R. A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66:213-227.
- Zinn, R. A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 68:767-775.
- Zinn, R. A. and F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157-166.
- Zinn, R. A. and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71:11-17.
- Zinn, R. A. and J. L. Borquez. 1993. Interaction of restricted versus *ad libitum* access to feed on effects of yeast culture supplementation on digestive function in feedlot calves. *Western Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 44:424.
- Zinn, R. A. and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 76:1280-1289.

Influence of protein nutrition and virginiamycin supplementation on feedlot growth performance and digestive function of calf-fed Holstein steers

J. Salinas-Chavira,* A. Barreras,† A. Plascencia,†
M. F. Montano,† J. D. Navarrete,† N. Torrentera,† and R. A. Zinn‡¹

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km-5 Carretera Victoria-Mante, Cd. Victoria, Tam. 87000, Mexico; †Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Km 5.5, carretera Mexicali/San Felipe, Mexicali, Baja California 21386, Mexico; and ‡Department of Animal Science, University of California, Davis 95616

ABSTRACT: Two experiments were conducted to examine the influence of protein and virginiamycin (VM) supplementation on feedlot growth performance, digestion, and metabolizable AA (MAA) supply of calf-fed Holstein steers. Growth performance and dietary energetics were evaluated in 120 Holstein steers (127 ± 9 kg). During the initial 112-d feeding period, a steam-flaked corn-based diet was balanced to meet either 100% (MAB) or 87% (UREA) of MAA requirements. Diets were supplemented with or without 22.5 mg/kg VM in a 2×2 factorial arrangement. Subsequently (d 112 to 308), all steers received the UREA diet with or without VM. During the initial 112-d, MAB increased ADG, G:F, and dietary NE ($P < 0.01$). Thereafter, when all steers received the UREA diet, ADG, G:F, and dietary NE were not different ($P > 0.10$) across initial supplementation treatments. Overall (d 1 to 308), MAB did not affect ADG ($P > 0.10$) but enhanced G:F efficiency ($P = 0.03$) and dietary NE ($P = 0.05$). During the initial 112-d period and through the remainder of the experiment, VM increased G:F ($P < 0.01$) and dietary NE ($P < 0.01$). Four Holstein steers (146 ± 4 kg) with cannulas in the rumen and proximal duodenum were used in a 4×4 Latin square

design to evaluate initial 112-d treatment effects on digestive function. There were no treatment effects ($P > 0.10$) on ruminal digestion of OM, NDF, starch, microbial efficiency, or total tract digestion of OM and NDF. The MAB increased indispensable AA flow to the small intestine ($P < 0.01$) and total tract digestion of N ($P < 0.01$) and starch ($P = 0.04$). Observed AA supply to small intestine was in agreement with expected supply ($r^2 = 0.96$). Virginiamycin decreased ($P = 0.04$) nonammonia N flow to the small intestine and did not affect ($P > 0.10$) total tract N digestion. Extrapolating from AA supplies in the metabolism study, MAB satisfied indispensable AA requirements during the initial 112-d period, whereas the UREA diet met 73.5% and 79.2% of methionine and lysine requirements, respectively. During the subsequent periods (d 112 to 308) indispensable AA supplies exceeded theoretical requirements. We conclude that enhancements in energy utilization when diets are balanced to meet MAA requirements of calf-fed Holstein steers during the initial 112-d feedlot period remain appreciable throughout time on feed. Virginiamycin enhanced efficiency of energy utilization throughout the feedlot growing-finishing period.

Key words: digestion, feedlot, Holstein, performance, protein, virginiamycin

© 2016 American Society of Animal Science. All rights reserved.

J. Anim. Sci. 2016.94:4276–4286
doi:10.2527/jas2016-0576

INTRODUCTION

In the southwestern United States, calf-fed Holstein steers are commonly fed steam-flaked corn-based

diets containing 12% to 13% CP, with urea as the primary or sole source of supplemental N (Zinn et al., 2005; Vasconcelos and Galyean, 2007). These diets satisfy average AA requirements for the overall feedlot phase (300 to 350 d; NRC, 2000) but do not meet requirements during the early stages of growth (first 112 to 140 d; Zinn and Shen, 1998; Zinn et al., 2007). Methionine and lysine are considered the first-limiting

¹Corresponding author: razinn@ucdavis.edu

Received April 25, 2016.

Accepted July 14, 2016.

AA during early growth (Hussein and Berger, 1995; Zinn and Shen, 1998; Zinn et al., 2007). Deficiencies in essential AA during this period negatively affect ADG and G:F, causing economic losses (Hussein and Berger, 1995; Wessels et al., 1997; Zinn et al., 2007). Virginiamycin (VM) is an antimicrobial that inhibits growth of Gram-positive bacteria (Cocito, 1979). In a 7-trial summary (Rogers et al., 1995), supplementation with 19 to 27 mg of VM/kg (DM basis) enhanced ADG (4.6%) and G:F (3.6%) and reduced (38%) the incidence of liver abscess. Virginiamycin inhibits growth of ruminal lactic acid-producing bacteria, reducing the risk of lactic acidosis and associated digestive dysfunctions (Owens et al., 1998). Virginiamycin might also enhance postruminal nutrient uptake. In swine, VM enhanced digestion of DM, N, and energy (Vervaeke et al., 1979; Ravindran et al., 1984) and minerals (Ravindran et al., 1984; Agudelo et al., 2007), attributable to increased intestinal retention time (28% to 33%, Ravindran et al., 1984) and to decreased microbial growth (Vervaeke et al., 1979). There is very limited information regarding the influence of VM supplementation in calf-fed Holsteins. In a preliminary study, Salinas-Chavira et al. (2009) observed that VM supplementation enhanced 340-d G:F and efficiency of energy utilization of calf-fed Holstein steers fed a steam-flaked corn-based growing-finishing diet. The objective of the present study was to further evaluate the influence of VM supplementation of calf-fed Holstein steers and the influence of balancing diet formulations to meet AA requirements during the initial 112 d on growth performance, efficiency of energy utilization, and characteristics of digestion.

MATERIALS AND METHODS

Animal care and handling techniques were approved by the University of California Animal Care and Use Committee.

Experiment 1: Feedlot Growth Performance

One hundred and twenty Holstein steer calves (127 $\pm$ 9 kg) were utilized to evaluate the influence of protein nutrition and VM supplementation on growth performance and dietary energetics. The trial was initiated July 8, 2014, and completed May 12, 2015. Calves were obtained from a commercial calf ranch (CalfTech, Tulare, CA). Upon arrival at the University of California Desert Research and Extension Center (Holtville, CA), steer calves were treated against internal and external parasites (Dectomax, Pfizer Animal Health, New York, NY), injected with 1,500 IU vitamin E (as D- α -tocopherol), 500,000 IU vitamin A (as retinyl palmitate), 50,000 IU vitamin D₃ (Vital E-AD, Stuart Products, Bedford, TX), and 300 mg tulathromycin (Draxxin, Pfizer Animal

Health, New York, NY). Calves were blocked by initial shrunk (off-truck) weight into 5 groups and randomly assigned within weight groupings to 20 pens (6 steers per pen). Pens were 43 m² with 22 m² overhead shade, automatic waterers, and 2.4-m fence line feed bunks. Steers were allowed ad libitum access to feed and water. Fresh feed was provided twice daily at 0600 and 1400 h, offering approximately 40% of daily consumption in the morning feeding and the remainder in the afternoon feeding. Composition of experimental diets is shown in Table 1. During the initial 112-d feeding period, dietary treatments consisted of 2 levels of metabolizable protein (100% vs. 87% of expected requirements during the initial 112--d feeding period; NRC, 2000) supplemented with or without 22.5 mg/kg VM in a 2 $\times$ 2 factorial arrangement. The low metabolizable protein diet (87% of the NRC requirements) is typical of current conventional feedlot formulations, utilizing urea as the primary source of supplemental nitrogen. Subsequently (d 112 to 308), all steers received the urea-based diets. Steers previously receiving diets designated as 1 and 2 were switched to diets designated as 3 and 4, respectively (Table 1). Diets were prepared at weekly intervals and stored in plywood boxes located in front of each pen. On d 84, 140, and 224, all steers were injected subcutaneously with 500,000 IU vitamin A (Vital E-A+D, Stuart Products) and implanted with Revalor-S (Intervet, Millsboro, DE).

Hot carcass weights were obtained at time of slaughter. After carcasses chilled for 24 h, the following measurements were obtained: LM area (cm²) by direct grid reading of the muscle at the 12th rib, subcutaneous fat (cm) over the LM at the 12th rib taken at a location 3/4 the lateral length from the chine bone end (adjusted by eye for unusual fat distribution), KPH as a percentage of HCW, marbling score (USDA 1997; using 3.0 as minimum slight, 4.0 as minimum small, 5.0 as minimum modest, 6.0 as minimum moderate, etc.), and estimated retail yield of boneless, closely trimmed retail cuts from the round, loin, rib, and chuck (% HCW; Murphey et al., 1960), equal to $52.56 - 1.95 \times \text{subcutaneous fat} - 1.06 \times \text{KPH} + 0.106 \times \text{LM area} - 0.018 \times \text{HCW}$.

Energy gain (EG, Mcal/d) was calculated by the equation $EG = 0.0557 \times BW^{0.75} \times ADG^{1.097}$, where EG is the daily deposited energy (NRC, 1984). Maintenance energy (EM, Mcal/d) was calculated by the equation $EM = 0.084 \times BW^{0.75}$ (Garrett, 1971). From the derived estimates of energy required for maintenance and gain, the NE_m and NE_g values of the diet were obtained using the quadratic formula $x = (-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac})/2c$, where $a = -0.41 \times EM$, $b = 0.877 \times EM + 0.41 \times DMI + EG$, $c = -0.877 \times DMI$, and $NE_g = 0.877 \times NE_m - 0.41$ (Zinn and Shen, 1998).

Data for growth performance variables were analyzed in a randomized complete block design, with a

2 × 2 factorial arrangement of treatments, considering initial shrunk weight groupings for blocks and pen as experimental unit, according to the following statistical model: $Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + \epsilon_{ij}$, where μ is the common experimental effect, B_i represents initial weight block effect, T_j represents dietary treatment effect, and ϵ_{ij} represents the residual error (Statistix 10, Analytical Software, Tallahassee, FL). In determination of ADG, interim and final weights were reduced 4% to account for digestive tract fill. Final shrunk weight was carcass adjusted by dividing HCW by the decimal fraction of the average dressing percentage of all steers in the study (0.619). Treatment main effects and interactions were tested by means of orthogonal contrasts.

Experiment 2: Characteristics of Digestion

Diets were the same as those fed in Exp. 1 during the initial 112-d feeding period (Table 1) with inclusion of 0.3% chromic oxide as an indigestible marker to estimate nutrient flows and digestibility. Chromic oxide was premixed with minor ingredients (urea, limestone, and trace mineral salt) before incorporation into complete mixed diets. Four Holstein steers (146 ± 4 kg) with cannulas in the rumen and proximal duodenum (Zinn and Plascencia, 1993) were used in a 4 × 4 Latin square design to evaluate treatment effects on digestive function. Steers were housed (indoor facilities) in individual pens (4 m²) that had concrete floor covered by neoprene carpet, automatic waterers, and an individual feed bunk. Experimental diets were fed daily in equal portions at 0800 and 2000 h. Dry matter intake was restricted to 2.2% of the BW. Experimental periods consisted of 10 d for diet adjustment and 4 d for sample collection. Between each experimental period, steers were allowed a 7-d recovery period during which all steers were fed the basal urea diet with no supplemental VM (diet 3, Table 1). During collection, duodenal and fecal samples were taken twice daily as follows: d 1, 1030 and 1630 h; d 2, 0900 and 1500 h; d 3, 0730 and 1500 h; and d 4, 0600 and 1200 h. Individual samples consisted of approximately 700 mL of duodenal chyme and 200 g (wet basis) of feces. Samples for each steer within each collection period were composited for analysis. During the final day of each collection period, ruminal samples were obtained from each steer via the ruminal cannula at 4 h after feeding. Ruminal fluid pH was determined on freshly collected samples. Samples were then strained through 4 layers of cheesecloth. Two milliliters of freshly prepared 25% (wt/vol) metaphosphoric acid was added to 8 mL of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuged (17,000 × g for 10 min at 0°C), and supernatant fluid was stored at -20°C for VFA analysis. Upon completion of the experiment, ruminal fluid was obtained via the ruminal cannula from all

Table 1. Composition of experimental diets

Item	MAB ¹		Urea ²	
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM
Diet designation	1	2	3	4
Ingredient composition, % DM				
Alfalfa hay	6.00	6.00	6.00	6.00
Sudangrass hay	6.00	6.00	6.00	6.00
Steam-flaked corn	69.66	69.66	76.23	76.23
Protein blend ³	7.00	7.00	0	0
Yellow grease	2.00	2.00	2.00	2.00
Cane molasses	6.00	6.00	6.00	6.00
Limestone	1.27	1.27	1.27	1.27
Urea	0.90	0.90	1.30	1.30
Trace mineral salt ⁴	0.40	0.40	0.40	0.40
Magnesium oxide	0.15	0.15	0.15	0.15
Dicalcium phosphate	0.62	0.62	0.65	0.65
Virginiamycin, mg/kg ⁵	0	25	0	25
Nutrient composition				
NE, Mcal/kg				
Maintenance	2.17	2.17	2.19	2.19
Gain	1.49	1.49	1.51	1.51
CP, %	16.7	16.7	12.9	12.9
UIP, %	51.1	51.1	34.5	34.5
DIP, %	48.9	48.9	65.5	65.5
mMET, g/d (NRC, 2000, level 1)	13.4	13.4	10.8	10.8
mLYS, g/d (NRC, 2000, level 1)	47.6	47.6	29.9	29.9
Ether extract, %	5.36	5.36	6.00	6.00
Calcium, %	0.80	0.80	0.80	0.80
Phosphorous, %	0.40	0.40	0.28	0.28
Potassium, %	0.78	0.78	0.78	0.78
Magnesium, %	0.26	0.26	0.26	0.26
Sulfur, %	0.24	0.24	0.18	0.18

¹VM = virginiamycin; UIP = undegradable intake protein; DIP = degradable intake protein; mMET = metabolizable methionine; mLYS = metabolizable lysine. Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable amino acid requirements (MAB) during the initial 112 days on feed (NRC, 2000).

²Urea sole source of supplemental N.

³Commercial blend of blood meal and corn distillers, containing (DM basis) 1.1% methionine, 5.7% lysine, and 77.5% CP (PROVAAL2 AAdvantage, Perdue AgSolutions LLC, Salisbury, MD).

⁴Trace mineral salt contained CoSO₄, 0.068%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 0.75%; MnSO₄, 1.07%; KI, 0.52%; and NaCl, 93.4%.

⁵V-Max 50, Phibro Animal Health, Teaneck, NJ.

steers and composited for isolation of ruminal bacteria via differential centrifugation (Bergen et al., 1968). Feed, duodenal fluid, and fecal samples were subjected to the following analysis: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15; AOAC, 2000); ash (method 942.05; AOAC, 2000); Kjeldahl N (method 984.13; AOAC, 2000); neutral detergent fiber (**aND-Fom**), corrected for NDF ash, incorporating heat-stable α -amylase (Ankom FAA, Ankom Technology, Macedon, NY) at 1 mL/100 mL of NDF solution (Van Soest et al., 1991); AA, hydrolysis under N in sealed ampules with 6

N HCL for 24 h at 110°C followed by AA analysis using a Beckman 6300 Amino Acid Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA); methionine (preoxidation with performic acid before HCL hydrolysis; Spindler et al., 1984); chromic oxide (Hill and Anderson, 1958); and starch (Zinn, 1990). Duodenal samples were analyzed for ammonia N (method 941.04; AOAC, 2000) and purines (Zinn and Owens, 1986). Duodenal flow and fecal excretion of DM were calculated on the basis of marker ratio, using chromic oxide. Microbial OM (**MOM**) and N (**MN**) leaving the abomasum were calculated using purines as a microbial marker (Zinn and Owens, 1986). Organic matter fermented in the rumen was considered equal to OM intake minus the difference between the amount of total OM reaching the duodenum and MOM reaching the duodenum. Feed N escape to the small intestine was considered equal to total N leaving the abomasum minus ammonia N, MN, and endogenous N ($0.195 \times \text{BW}^{0.75}$; Ørskov et al., 1986). Ruminal temperature was monitored at 5-min intervals during the 4-d sample collection periods by means of ruminal temperature data logging boluses (IDL-750 Ruminal Bolus, Telonics Inc., Mesa, AZ).

This experiment was analyzed as a balanced 4×4 Latin square with a 2×2 factorial arrangement of treatments. The statistical model for the trial was as follows: $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + E_{ijk}$, where Y_{ijk} is the response variable, μ is the common experimental effect, A_i is the steer effect, P_j is the period effect, T_k is the treatment effect, and E_{ijk} is the residual error. Treatment main effects and interaction were tested by means of orthogonal contrasts. Treatment effects on temperature (TEMP) were evaluated by means of a linear mixed model for analysis of repeated measures as follows: $Y_{ij(k)l} = \mu + A_i + P_j + T_k + H_l + (TH)_{kl} + E_{ij(k)l}$, where $Y_{ij(k)l}$ is the TEMP variable, μ is the common experimental effect, A_i is the random steer effect, P_j is the fixed period effect, T_k is the fixed treatment effect, H_l is the fixed hour effect, $(TH)_{kl}$ is the fixed interaction effect of treatment with hour, $E_{ij(k)l}$ is the random effect of interaction of steer with period within treatment, and $E_{ijl(k)}$ is the residual error. Data were analyzed using autoregressive order 1 covariance structures with the MIXED procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) using the REPEATED statement.

RESULTS AND DISCUSSION

Treatment effects on growth performance and dietary NE are shown in Table 2. There were no treatment effects ($P > 0.10$) on overall DMI. Diet formulation to meet metabolizable AA requirements of calf-fed Holstein steers during the initial 112-d period (**MAB**) increased ADG (12.4%, $P < 0.01$), G:F (12.7%, $P < 0.01$), and dietary NE (9%, $P < 0.01$) over that of steers receiving

the conventional UREA diet (with urea as sole source of supplemental N). This response was anticipated. Daily weight gain, G:F, and efficiency of energy utilization are enhanced proportionately with metabolizable AA supply, reaching a plateau when supplies of limiting AA are met (Zinn and Owens, 1993; Zinn et al., 2007). On the basis of either factorial (NRC, 2000) or empirical (Zinn, 1988) approaches for estimation of requirements, the conventional steam-flaked corn-based diet with urea as the sole source of supplemental N is expected to be deficient in meeting metabolizable methionine and lysine requirements during this initial 112-d period. Hence, observed dietary NE averaged 97.0% and 87.5% of expected for the MAB and UREA diets, respectively. In close agreement, Zinn et al. (2007) observed that in comparison with a conventional urea-based growing-finishing diet, supplementation to meet the metabolizable AA requirements of calf-fed Holstein steers (114 kg) during the initial 112 d on feed increased the ratio for observed vs. expected dietary NE from 87.0% to 96.5%. In the present study, the steam-flaked corn-based diet was balanced for metabolizable AA using a commercial blend of porcine blood meal and distillers dried grains as the supplemental protein source of diets (Table 1). However, in the case of Zinn et al. (2007) the diet was balanced using fishmeal as the supplemental protein source. Zinn and Owens (1993) observed similar responses in initial 84-d ADG, G:F, and observed vs. expected dietary NE of lightweight (198 kg) crossbred steers fed a steam-flaked corn-based growing diet balanced for metabolizable AA using a blend of meals of blood, feather, and meat and bone. Again, the ratio of observed vs. expected dietary NE for balanced vs. urea as the sole source of supplemental N was comparable to that observed with calf-fed Holsteins, averaging 95% and 88%, respectively.

Throughout the subsequent 196 d of the study when all steers received the UREA diet (d 112 to 308; 278 to 597 kg weight range), form of supplemental N during the initial period did not affect ($P > 0.10$) ADG, G:F, and dietary NE. This response is expected in as much as during this period all steers were receiving the same diet. Overall (d 1 to 308), diet formulation to meet metabolizable AA requirements during the initial 112-d period did not affect ADG ($P > 0.10$). However, effects of MAB during the initial 112-d period carried through, resulting in increased overall (308-d) G:F (4.2%, $P = 0.03$) and dietary NE (4.3%, $P = 0.05$). Likewise, Zinn et al. (2007) observed that following an initial 112-d period when calves were fed a diet balanced to meet metabolizable AA requirements, subsequent 239-d performance when all calves received a steam-flaked corn-based diet where urea was the sole source of supplemental N was similar across initial 112-d treatments. Nevertheless, overall (d 1 to 351) ADG, G:F, and observed vs. expected dietary

Table 2. Treatment effects on growth performance of calf-fed Holstein steers

Item	MAB ¹		Urea ²		SEM	<i>P</i> -value		
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM		Protein	VM	Interaction
Days on test	308	308	308	308				
Pen replicates	5	5	5	5				
Live weight, ³ kg								
Initial	130	131	131	131	0.5	0.63	0.51	0.12
Final	561	597	574	569	12	0.53	0.21	0.11
ADG, kg								
1 to 112 d	1.38	1.44	1.24	1.26	0.02	<0.01	0.08	0.37
112 to 224 d	1.52	1.67	1.64	1.62	0.05	0.51	0.25	0.13
224 to 308 d	1.27	1.40	1.43	1.38	0.06	0.31	0.54	0.19
1 to 308 d	1.40	1.51	1.44	1.42	0.04	0.51	0.21	0.12
DMI, kg/d								
1 to 112 d	5.39	5.35	5.46	5.29	0.08	0.98	0.20	0.43
112 to 224 d	8.66	8.91	8.91	8.78	0.24	0.80	0.82	0.43
224 to 308 d	10.18	10.47	11.01	10.26	0.27	0.28	0.41	0.08
1 to 308 d	7.89	8.04	8.23	7.91	0.16	0.52	0.62	0.18
G:F								
1 to 112 d	0.255	0.270	0.227	0.239	0.004	<0.01	<0.01	0.72
112 to 224 d	0.176	0.187	0.184	0.184	0.003	0.40	0.09	0.12
224 to 308 d	0.125	0.134	0.130	0.134	0.004	0.48	0.11	0.52
1 to 308 d	0.178	0.188	0.175	0.180	0.002	0.03	<0.01	0.29
Dietary NE, Mcal/d								
Maintenance								
1 to 112 d	2.05	2.15	1.89	1.96	0.02	<0.01	<0.01	0.60
112 to 224 d	2.10	2.22	2.11	2.12	0.03	0.15	0.03	0.08
224 to 308 d	2.03	2.17	2.04	2.12	0.04	0.57	0.02	0.44
1 to 308 d	2.08	2.21	2.06	2.11	0.03	0.05	<0.01	0.18
Gain								
1 to 112 d	1.39	1.48	1.24	1.31	0.02	<0.01	<0.01	0.60
112 to 224 d	1.43	1.54	1.44	1.45	0.02	0.15	0.03	0.08
224 to 308 d	1.37	1.49	1.38	1.45	0.03	0.57	0.02	0.44
1 to 308 d	1.42	1.52	1.40	1.44	0.02	0.05	<0.01	0.18
Observed to expected dietary NE ratio								
Maintenance								
1 to 112 d	0.95	0.99	0.86	0.89	0.01	<0.01	0.03	0.59
112 to 224 d	0.96	1.01	0.96	0.97	0.01	0.15	0.03	0.08
224 to 308 d	0.93	0.99	0.93	0.97	0.02	0.57	0.02	0.44
1 to 308 d	0.95	1.01	0.94	0.96	0.01	0.04	<0.01	0.18
Gain								
1 to 112 d	0.92	0.98	0.82	0.87	0.01	<0.01	0.03	0.60
112 to 224 d	0.95	1.02	0.95	0.96	0.02	0.15	0.03	0.08
224 to 308 d	0.91	0.99	0.91	0.96	0.02	0.57	0.02	0.44
1 to 308 d	0.94	1.01	0.92	0.95	0.02	0.04	<0.01	0.18

¹Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

²Urea sole source of supplemental N.

³Initial and final live weights reduced 4% to account for fill. Final weight adjusted for carcass weight by dividing carcass weight by the decimal fraction of the average dressing percentage for all steers.

NE were greater for steers fed a diet that was balanced to meet metabolizable AA requirements during the initial 112-d period. Thus, calf-fed Holstein steers, in spite of the long feeding period (>300 d on feed), do not compensate for inefficiencies in performance due to AA deficiencies during the initial 112-d feeding period.

Virginiamycin supplementation did not affect ($P > 0.10$) initial or overall DMI. During the initial 112-d period, VM supplementation tended to increase ADG (3.3%, $P = 0.08$) and increased G:F (5.6%, $P < 0.01$) and dietary NE (4.3%, $P < 0.01$). During the remainder of the experiment and overall (d 1 to 308), the effect on ADG

Table 3. Treatment effects on carcass characteristics of Holstein steers

Item	MAA balanced ¹		Urea ²		SEM	<i>P</i> -value		
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM		Protein	VM	Interaction
Days on test	308	308	308	308				
Pen replicates	5	5	5	5				
Carcass weight, kg	347.5	369.4	355.4	352.4	7.2	0.53	0.21	0.11
Dressing percentage	61.7	62.4	61.5	61.9	0.3	0.21	0.09	0.58
LM area, cm ²	79.3	81.3	80.3	82.1	2.00	0.67	0.36	0.98
Fat thickness, cm	0.74	0.90	0.77	0.78	0.06	0.48	0.16	0.24
KPH, ³ %	2.18 ^{a,b}	2.33 ^a	2.28 ^{a,b}	2.13 ^b	0.06	0.44	1.00	0.03
Carcass yield, ⁴ %	52.3	52.0	52.2	52.6	0.21	0.32	0.91	0.16
Quality grade ⁵	4.37	4.67	4.61	4.37	0.22	0.90	0.90	0.23

^{a,b}Treatment interaction. Means in a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

¹Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

²Urea sole source of supplemental N.

³Kidney, pelvic, and heart fat as a percentage of carcass weight.

⁴Estimated proportion of closely trimmed boneless retail cuts from carcass round, loin, rib and chuck (USDA, 1997).

⁵Coded: minimum slight = 3, minimum small = 4, etc.

was not appreciable ($P > 0.10$). However, compared to nonsupplemented diets, it increased overall G:F (4.2%, $P < 0.01$) and dietary NE (4.3%, $P < 0.01$). Indeed, the enhancement in dietary NE was apparent ($P \leq 0.03$) within each period of the study. In a 340-d growing-finishing trial, Salinas-Chavira et al. (2009) also did not observe an effect of VM supplementation on ADG of calf-fed Holstein steers fed a steam-flaked corn-based finishing diet. However, in accordance with the present study, VM supplementation increased G:F (4.0%) and the ratio of observed vs. expected dietary NE (3.8%). In a summary of 7 feedlot growth performance trials involving conventional beef breeds fed for 112 to 245 d, dietary supplementation with 19 to 27 mg VM/kg diet (DM basis) enhanced both ADG (4.6%) and G:F (3.6%). In a 145-d finishing study involving yearling crossbred steers fed a steam-flaked corn-based diet, Montano et al. (2014) observed that VM supplementation increased ADG (7.5%), G:F (11.9%), and the ratio of observed vs. expected dietary NE (9.6%). Costa et al. (2015) evaluated a lower level of VM supplementation (0 vs. 15 mg/kg diet DM) on feedlot performance of Nellore steers. Virginiamycin supplementation did not affect ADG but increased (5.9%) dietary NE.

The basis for enhanced gain efficiency in cattle supplemented with VM is not certain. As stated previously, contributing factors might include inhibition of ruminal lactic acid-producing bacteria, reducing risk of lactic acidosis and associated digestive dysfunctions (Owens et al., 1998). As a possible indicator of conditional subacute acidosis, we examined treatment effects on variance of within-pen ADG. Accordingly, the SD for within-pen ADG during the first 112 d, second 196 d, and overall 308 d of the study averaged 0.126, 0.173, and 0.132, respectively, and was not affected

($P > 0.60$) by dietary treatment. Virginiamycin might also enhance postruminal nutrient uptake (Vervaeke et al., 1979; Ravindran et al., 1984; Agudelo et al., 2007).

There were no main effects ($P > 0.10$) of MAB supplementation during the initial 112-d period on subsequent carcass characteristics (Table 3). Zinn et al. (2007) observed a tendency for increased dressing percentage and increased fat thickness and LM area of calf-fed Holstein steers supplemented to meet metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed. These effects were attributed to treatment effects on carcass weight. Virginiamycin supplementation tended to increase carcass dressing percentage (0.9%, $P = 0.09$). There was an interaction ($P = 0.03$) between MAB and VM on percentage KPH. Percentage KPH was greater ($P < 0.05$) for MAB plus VM than for UREA plus VM. The basis for this effect is not certain, although, again, it coincides with differences in carcass weight ($r^2 = 0.66$).

There were no treatment effects ($P > 0.10$) on ruminal digestion of OM, NDF, and starch or ruminal microbial efficiency (g microbial N/kg OM fermented; Table 4). As expected, MAB increased ($P < 0.01$) nonammonia N flow in the small intestine and decreased ($P = 0.04$) percentage of feed N degraded in the rumen. Nonammonia N entering the small intestine as a percentage of N intake (N efficiency) was greater (12.6%, $P < 0.01$) for UREA than for MAB, consistent with the net gain in N due to N recycling (Kennedy and Milligan, 1980; May et al., 2014). Virginiamycin supplementation slightly decreased (6.1%, $P = 0.04$) nonammonia N flow to the small intestine, tending (interaction, $P = 0.10$) to be more apparent with the MAB diet. The basis for this is not certain. Ives et al. (2002) observed increased in vitro protease activity

Table 4. Treatment effects on characteristics of ruminal and total tract digestion (Exp. 2)

Item	MAA Balanced ¹		Urea ²		SEM	P-value		
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM		Protein	VM	Interaction
Intake, g/d								
DM	3,260	3,260	3,260	3,260				
OM	3,058	3,058	3,070	3,070				
NDF	527	527	511	511				
Nitrogen	81	81	56	56				
Starch	1,516	1,516	1,679	1,679				
Flow to duodenum, g/d								
Nonammonia N	87.01	78.8	65.2	64.1	2.0	<0.01	0.04	0.10
Microbial nitrogen	41.9	39.7	38.7	38.7	2.0	0.31	0.60	0.59
Feed nitrogen	36.9	30.8	18.3	17.2	2.6	<0.01	0.20	0.37
Rumen digestion, %								
OM	64.6	64.9	62.1	61.3	4.6	0.52	0.96	0.90
NDF	58.2	55.3	56.5	54.7	7.0	0.88	0.74	0.94
Starch	85.0	82.7	78.5	75.1	5.4	0.22	0.61	0.92
Feed nitrogen	54.1	61.7	67.2	69.2	4.5	0.04	0.31	0.54
Microbial efficiency ³	21.3	20.1	20.8	22.0	2.1	0.74	0.98	0.57
Nitrogen efficiency ⁴	1.08	0.98	1.17	1.15	0.04	<0.01	0.12	0.28
Postruminal digestion, % from duodenum								
OM	66.3	64.1	63.1	59.9	0.92	<0.01	0.01	0.60
Nitrogen	77.1 ^a	72.9 ^b	65.2 ^c	67.5 ^c	1.2	<0.01	0.45	0.02
Starch	92.9 ^a	92.8 ^a	90.3 ^b	86.0 ^c	1.2	<0.01	<0.01	<0.01
Total tract digestion, %								
DM	81.3	80.6	79.1	77.2	1.7	0.12	0.44	0.72
OM	83.5	82.7	81.3	79.5	1.6	0.12	0.44	0.74
NDF	60.5	60.0	58.2	56.5	3.9	0.48	0.78	0.89
Nitrogen	74.3	72.1	57.7	61.3	2.0	<0.01	0.74	0.18
Starch	98.9	98.7	97.9	96.4	0.7	0.04	0.27	0.39

^{a-c}Treatment interaction. Means in a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

¹Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

²Urea sole source of supplemental N.

³Duodenal microbial N, g/kg1 OM fermented in the rumen.

⁴Duodenal nonammonia N, g/g1 N intake.

due to VM supplementation. Consistent with the present study, effects of VM supplementation on nonammonia N flow to the small intestine in steers fed steam-flaked corn-based finishing diets with urea as the sole source of supplemental N were also not appreciable in prior studies (Salinas-Chavira et al., 2009; Montano et al., 2014).

Post ruminal digestion of OM, N, and starch was greater (6.0%, 13.0%, and 5.3%, respectively; $P < 0.01$) for MAB than UREA diets. Virginiamycin supplementation decreased (4.2%, $P = 0.01$) postruminal OM digestion. However, there was an interaction ($P = 0.02$) between supplemental protein and VM effect on postruminal N ($P = 0.02$) and starch ($P < 0.01$) digestion. With the MAB diets VM supplementation decreased (5.4%) postruminal N digestion. However, with the UREA diet, postruminal N digestion was unaffected by VM supplementation. In contrast, with the MAB diets VM supplementation did not affect postru-

mal starch digestion. However, with the UREA diet, VM supplementation decreased (4.8%) postruminal starch digestion. The changes in postruminal digestion due to VM supplementation were unexpected. In swine, VM enhanced digestion of DM and N (Vervaeke et al., 1979; Ravindran et al., 1984).

There were no treatment effects ($P > 0.10$) on total tract digestion of OM and NDF. Total tract digestion of N ($P < 0.01$) and starch ($P = 0.04$) were greater for MAB than UREA diets. Increased apparent N digestion is a predictable result of increased dietary N concentration (Marini et al., 2007). Also, greater apparent N digestion is consistent with the increased postruminal N digestion of the MAB diet. Consistent with previous work (Salinas-Chavira et al., 2009; Montano et al., 2014), VM supplementation did not affect ($P > 0.10$) total tract digestion of N or starch.

Consistent with increased flow of nonammonia N, flow of indispensable AA to the small intestine was also

Table 5. Expected vs. observed supply of indispensable AA to the small intestine of Holstein steers (Exp. 2)

Item	MAA balanced ¹		Urea ²		SEM	<i>P</i> -value		
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM		Protein	VM	Interaction
Methionine								
NRC (2000), level 1	9.45	9.45	7.62	7.62				
Leaving abomasum	8.61	8.87	7.18	6.95	0.55	0.01	0.98	0.67
Lysine								
NRC (2000), level 1	33.56	33.56	21.19	21.19				
Leaving abomasum	33.48	30.87	21.72	22.72	1.79	<0.01	0.66	0.33
Arginine								
NRC (2000), level 1	25.56	25.56	18.67	18.67				
Leaving abomasum	22.02	20.36	15.66	16.23	1.28	<0.01	0.68	0.40
Threonine								
NRC (2000), level 1	22.58	22.58	16.80	16.80				
Leaving abomasum	24.83	22.50	17.64	18.05	1.43	<0.01	0.52	0.36
Leucine								
NRC (2000), level 1	50.91	50.91	32.20	32.20				
Leaving abomasum	50.71	46.82	33.14	34.53	2.73	<0.01	0.66	0.35
Isoleucine								
NRC (2000), level 1	18.56	18.56	16.97	16.97				
Leaving abomasum	19.22	17.86	15.99	16.41	1.30	0.10	0.72	0.51
Valine								
NRC (2000), level 1	31.67	31.67	19.65	19.65				
Leaving abomasum	29.68	27.08	18.32	18.65	1.49	<0.01	0.46	0.35
Histidine								
NRC (2000), level 1	18.59	18.59	9.04	9.04				
Leaving abomasum	14.52	13.37	7.76	8.00	1.29	<0.01	0.50	0.30
Phenylalanine								
NRC (2000), level 1	27.94	27.94	17.10	17.10				
Leaving abomasum	26.36	24.84	17.17	17.90	1.41	<0.01	0.44	0.34
Total indispensable AA								
NRC (2000), level 1	238.8	238.8	159.2	159.2				
Leaving abomasum	228.7	211.8	154.0	158.8	12.6	<0.01	0.64	0.40

¹Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

²Urea sole source of supplemental N.

Table 6. Treatment effects on ruminal pH, VFA molar proportions, and estimated methane production

Item	MAA balanced ¹		Urea ²		SEM	P-value		
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM		Protein	VM	Interaction
pH, rumen	6.17	6.09	5.93	6.14	0.12	0.45	0.61	0.27
Ruminal VFA, mol/100 mol								
Acetate	58.8	60.8	59.2	60.6	1.9	0.95	0.40	0.89
Propionate	23.2	19.4	24.0	25.3	4.4	0.46	0.79	0.58
Isobutyrate	1.04	1.07	0.78	0.59	0.17	0.05	0.56	0.52
Butyrate	12.50	13.97	13.26	10.98	2.03	0.59	0.84	0.37
Isovalerate	3.40	3.38	1.51	1.36	0.61	<0.01	0.90	0.91
Valerate	1.13	1.41	1.23	1.14	0.11	0.45	0.38	0.11
Acetate:propionate ratio	2.58	3.23	2.81	2.92	0.60	0.94	0.54	0.66
Methane ³	0.56	0.60	0.55	0.54	0.05	0.50	0.70	0.65

¹Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

²Urea sole source of supplemental N.

³Methane production (mol/mol of glucose equivalent fermented) was estimated on the basis of the theoretical fermentation balance for observed molar distribution of VFA (Wolin, 1960)

Table 7. Extrapolated supply of metabolizable indispensable AA to the small intestines of steers in Exp. 1 compared with requirements (NRC, 2000, level 1)¹

Metabolizable AA, g/d	MAA balanced ²		Urea ³		Requirements (NRC, 2000)
	0 mg VM	22.5 mg VM	0 mg VM	22.5 mg VM	
d 1–112					
Methionine	11.6	11.5	8.6	8.6	11.7
Lysine	42.6	42.2	29.8	29.5	37.4
Histidine	18.4	18.3	10.6	10.5	14.6
Phenylalanine	33.9	33.6	23.5	23.3	20.5
Threonine	31.3	31.1	23.9	23.7	22.8
Leucine	64.5	64.0	45.3	44.9	39.2
Isoleucine	24.5	24.3	21.7	21.5	16.4
Valine	37.5	37.3	24.8	24.5	23.4
Arginine	28.0	27.8	21.4	21.2	19.3
d 112– 224					
Methionine	15.0	15.4	15.4	15.2	14.3
Lysine	47.2	48.6	48.6	47.9	45.8
Histidine	16.7	17.2	17.2	17.0	17.9
Phenylalanine	37.3	38.3	38.3	37.8	25.1
Threonine	37.9	39.0	39.0	38.4	27.9
Leucine	71.9	74.0	74.0	72.9	48.0
Isoleucine	34.4	35.4	35.4	34.9	20.0
Valine	39.3	40.4	40.4	39.8	28.6
Arginine	33.9	34.9	34.9	34.4	27.9
d 224–308					
Methionine	17.6	18.2	19.1	17.8	12.5
Lysine	55.5	57.1	60.0	55.9	40.0
Histidine	19.7	20.2	21.3	19.8	15.6
Phenylalanine	43.8	45.1	47.4	44.1	21.9
Threonine	44.6	45.8	48.2	44.9	24.4
Leucine	84.5	86.9	91.4	85.2	41.9
Isoleucine	40.5	41.6	43.8	40.8	17.5
Valine	46.2	47.5	49.9	46.5	25.0
Arginine	39.8	41.0	43.1	40.1	20.6
d 1–308					
Methionine	14.5	14.7	14.3	13.8	12.5
Lysine	47.8	48.6	44.9	43.4	40.0
Histidine	18.2	18.4	15.9	15.4	15.6
Phenylalanine	37.8	38.5	35.4	34.2	21.9
Threonine	37.3	38.0	36.0	34.9	24.4
Leucine	72.7	73.9	68.3	66.1	41.9
Isoleucine	32.5	33.1	32.7	31.6	17.5
Valine	40.5	41.2	37.3	36.1	25.0
Arginine	33.4	34.0	32.2	31.1	20.6

¹Supply of metabolizable indispensable AA to the small intestine of steers in Exp. 1 extrapolated from Exp. 2.

²Diet supplemented with protein to meet the expected metabolizable AA requirements during the initial 112 d on feed (NRC, 2000). VM = virginiamycin.

³Urea sole source of supplemental N.

greater (41%, $P < 0.01$) for MAB than for UREA (Table 5). Furthermore, observed AA supply to small intestine was in good agreement with expected results; observed = $0.97 \times \text{expected} - 0.35$; $r^2 = 0.96$), supporting the practicality of that approach in diet formulations to meet indispensable amino requirements. Although VM supplementation decreased nonammonia N flow to the small intestine of steers fed the MAB diet, it nevertheless did not affect ($P = 0.64$) total indispensable AA flow to the small intestine.

There were no treatment effects on ruminal pH; molar proportions of acetate, propionate, and butyrate; and estimated methane production (Table 6). The absence of effects on ruminal VFA molar proportions has been a consistent response to VM supplementation (Ives et al., 2002; Salinas-Chavira et al., 2009; Montano et al., 2014). Although Salinas-Chavira et al. (2009) and Ives et al. (2002) likewise did not show an effect of VM supplementation on ruminal pH, Montano et al. (2014) observed that VM supplementation increased ruminal pH. Compared with UREA, MAB increased molar proportions of the branched-chain VFA isobutyrate (54%, $P = 0.05$) and isovalerate (136%, $P < 0.01$), reflecting the greater ruminal supply and fermentation of branched-chain AA with the MAB diet.

There were no treatment effects on ruminal temperature averaging $39.4^\circ\text{C} \pm 0.35^\circ\text{C}$ (Fig. 1). However, ruminal temperature during the 6-h period following the morning feeding was slightly greater (1.8%, $P < 0.01$) than that of the 6-h period following the evening feeding, averaging 40.1°C and 39.4°C , respectively. This difference corresponds to diurnal patterns in ambient temperature. Average ambient temperatures during the 6-h periods following the morning and evening feeding were $17.4^\circ\text{C} \pm 3.4^\circ\text{C}$ and $11.7^\circ\text{C} \pm 5.5^\circ\text{C}$, respectively.

Extrapolating from the results of Exp. 2, the intestinal AA supply of Exp. 1 was estimated assuming that postruminal supply of each indispensable AA was proportional to feed intake (Titgemeyer et al., 1989; Zinn and Owens, 1993). Calculated supplies of indispensable AA reaching the small intestine and apparently absorbed from the small intestine are shown in Table 7, where metabolizable AA are equivalent to 80% of intestinal supply (NRC, 2000). Also shown in Table 7 are the theoretical indispensable AA requirements. These were determined on the basis of corresponding average weight and daily weight gain for steers in Exp. 1 (NRC, 2000, level 1). Accordingly, during the initial 112-d period, a priori MAB formulation was successful in meeting all metabolizable amino requirements of the animals. However, with the conventional urea-based formulation, supplies of both methionine and lysine were limiting, meeting 73.5% and 79.2% of theoretical requirements, respectively. These deficiencies were associated with decreases observed in ADG, G:F, and estimated dietary NE.

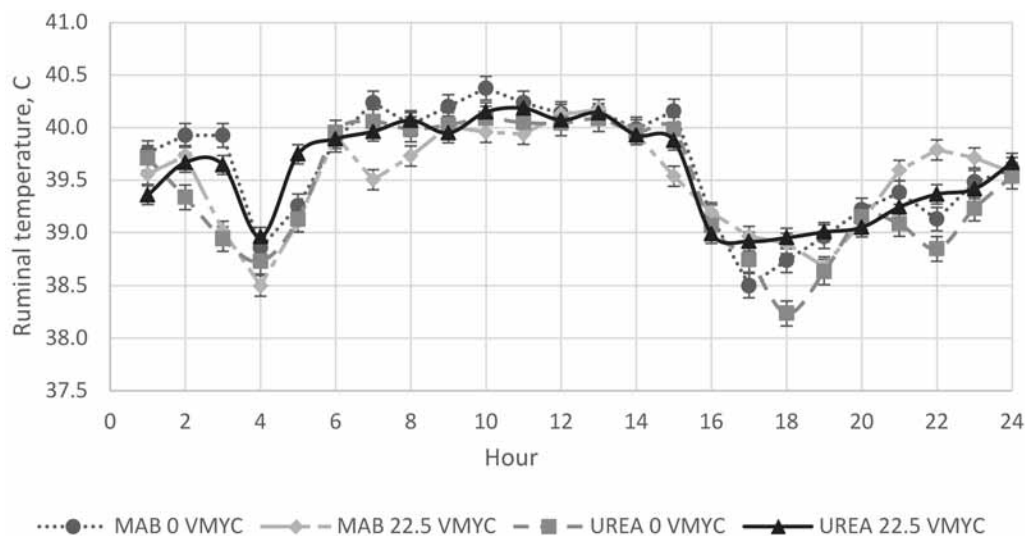


Figure 1. Treatment effects on ruminal temperature. Note that there were no treatment effects on ruminal temperature ($P > 0.10$). Ruminal temperature was greater ($P < 0.01$) during the 6-h period following the morning feeding than that of the 6-h period following the evening feeding. Animals were fed at 0800 and 2000 h.

During the subsequent periods (d 112 to 308), when all steers received the same urea-based diet, extrapolated supplies of all metabolizable AA exceeded theoretical requirements. Although the average overall (d 1 to 308) metabolizable AA supply in steers receiving solely the UREA diet exceeded theoretical requirements, compensations in growth performance were not sufficient to overcome deficiencies during the initial 112-d period, resulting in decreased overall G:F and dietary NE. This finding is in close agreement with that of Zinn et al. (2007), who evaluated various phase feeding strategies for meeting metabolizable AA requirements of calf-fed Holstein steers. In that study, fishmeal was the source of supplemental protein. Fishmeal is perhaps the only single protein source that is sufficiently high in both metabolizable methionine and lysine for balancing diets to meet requirements for lightweight cattle (NRC, 2000). However, because of poor acceptability (palatability), the level of inclusion is limited to $\leq 5\%$ of diet DM (personal experience). In this study we find that a combination of protein sources (blood meal and corn distillers grains) can also be effective in balancing diets to meet requirements.

Conclusions

Observed AA supply to the small intestine is a predictable function of diet formulation, supporting NRC (2000, level 1). Enhancements in the efficiency of dietary energy utilization when diets are balanced to meet metabolizable AA requirements of calf-fed Holstein steers during the initial 112-d feedlot period remained appreciable at the time of harvest. Virginiamycin supplementation of steam-flaked corn-based growing-finishing di-

ets uniformly enhanced efficiency of energy utilization throughout the feedlot growing-finishing period.

LITERATURE CITED

- Agudelo, J. H., M. D. Lindemann, G. L. Cromwell, M. C. Newman, and R. D. Nimmo. 2007. Virginiamycin improves phosphorus digestibility and utilization by growing-finishing pigs fed a phosphorus-deficient, corn-soybean meal diet. *J. Anim. Sci.* 85:2173–2182. doi:10.2527/jas.2006-733
- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.
- Bergen, W. G., D. B. Purser, and J. H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27:1497–1501.
- Cocito, C. 1979. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. *Microbiol. Rev.* 43:145–198.
- Costa, A. J., M. Caetano, A. Berndt, J. J. Assumpcao, R. Lemeand, and D. P. Duarte. 2015. Combined use of ionophore and virginiamycin for finishing Nellore steers fed high concentrate diets. *Sci. Agric.* 70:229–236.
- Garrett, W. 1971. Energy efficiency of beef and dairy steers. *J. Anim. Sci.* 31:452–456.
- Hill, F. W., and D. L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587–603.
- Hussein, H. S., and L. Berger. 1995. Feedlot performance carcass characteristics of Holstein steers as affected by source of dietary protein and level of ruminally protected lysine and methionine. *J. Anim. Sci.* 73:3503–3509.
- Ives, S. E., E. C. Titgemeyer, T. G. Nagaraja, A. del Barrio, D. J. Bindel, and L. C. Hollis. 2002. Effects of virginiamycin and monensin plus tylosin on ruminal protein metabolism in steers fed corn-based finishing diets with or without wet corn gluten feed. *J. Anim. Sci.* 80:3005–3015.
- Kennedy, P. M., and L. P. Milligan. 1980. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 60:205–221. doi:10.4141/cjas80-030

- Marini, J. C., D. G. Fox, and M. R. Murphy. 2007. Nitrogen transactions along the gastrointestinal tract of cattle: A meta-analytical approach. *J. Anim. Sci.* 86:660–679. doi:10.2527/jas.2007-0039
- May, D., J. F. Calderon, V. M. Gonzalez, M. Montano, A. Plascencia, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2014. Influence of ruminal degradable intake protein restriction on characteristics of digestion and growth performance of feedlot cattle during the late finishing phase. *J. Anim. Sci. Technol.* 56:14. doi:10.1186/2055-0391-56-14
- Montano, M. F., O. M. Manriquez, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2014. Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. *J. Appl. Anim. Res.* 43:417–425. doi:10.1080/09712119.2014.978785
- Murphey, C. E., D. K. Hallett, W. E. Tyler, and J. C. Pierce. 1960. Estimating yields of retail cuts from beef carcasses. In: *Proc. 62nd Meet. Am. Soc. Anim. Prod.*, Chicago, IL. p. 1–12.
- NRC. 1984. Nutrient requirements of beef cattle. 6th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ørskov, E. R., N. A. MacLeod, and D. J. Kyle. 1986. Flow of nitrogen from the rumen and abomasum in cattle and sheep given protein-free nutrients by intragastric infusion. *Br. J. Nutr.* 56:241–248. doi:10.1079/BJN19860103
- Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:275–286.
- Ravindran, V., E. T. Kronegay, and K. E. Webb Jr. 1984. Effects of fiber and virginiamycin on nutrient absorption, nutrient retention, and rate of passage in growing swine. *J. Anim. Sci.* 59:400–408.
- Rogers, J. A., M. E. Branine, C. R. Miller, M. I. Wray, S. J. Bartle, R. L. Preston, D. R. Gill, R. H. Pritchard, R. P. Stilborn, and D. T. Bechtol. 1995. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 73:9–20.
- Salinas-Chavira, J., J. Lenin, E. Ponce, U. Sanchez, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2009. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 87:4101–4108. doi:10.2527/jas.2009-1959
- Spindler, M., R. Stadler, and H. Tanner. 1984. Amino acid analyses of foodstuffs: Determination of methionine and cystine after oxidation with performic acid and hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* 32:1366–1371. doi:10.1021/jf00126a038
- Titgemeyer, E., N. R. Merchen, L. L. Berger, and L. E. Deetz. 1989. Evaluation of soybean meal, corn gluten meal, blood meal and fish meal as sources of nitrogen and amino acids disappearing from the small intestine of steers. *J. Anim. Sci.* 67:262–275.
- USDA. 1997. United States standards for grading of carcass beef. Agric. Market. Serv., USDA, Washington, DC.
- Van Soest, P. J., B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
- Vasconcelos, J. T., and M. L. Galyean. 2007. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionist: The 2007 Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 85:2772–2781. doi:10.2527/jas.2007-0261
- Vervaeke, I. J., J. A. Decuyper, N. A. Dierick, and H. K. Henderickx. 1979. Quantitative in vitro evaluation of energy metabolism influenced by virginiamycin and spiramycin used in growth promoters in pig nutrition. *J. Anim. Sci.* 49:846–856.
- Wessels, R. H., E. C. Titgemeyer, and G. St. Jean. 1997. Effect of amino acid supplementation on whole-body protein turnover in Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 75:3066–3073.
- Wolin, M. J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452–1459. doi:10.3168/jds.S0022-0302(60)90348-9
- Zinn, R. A. 1988. Crude protein and amino acid requirements of growing-finishing Holstein steers gaining 1.43 kilograms per day. *J. Anim. Sci.* 66:1755–1763.
- Zinn, R. A. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 68:767–775.
- Zinn, R. A., J. F. Calderon, L. Corona, A. Plascencia, M. F. Montaña, and N. Torrentera. 2007. Phase feeding strategies to meet metabolizable amino acids requirements of calf-fed Holstein steer. *Prof. Anim. Sci.* 23:336–339.
- Zinn, R. A., L. Corona, and A. Plascencia. 2005. Fat and protein supplementation of calf-fed Holstein steer. In: *Proc. Manag. Market. Quality Holstein Steers*. Rochester, MN. p. 89-93
- Zinn, R. A., and F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157–166. doi:10.4141/cjas86-017
- Zinn, R. A., and F. N. Owens. 1993. Ruminal escape protein for light-weight feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 71:1677–1687.
- Zinn, R. A., and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71:11–17.
- Zinn, R. A., and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feed lot calves. *J. Anim. Sci.* 76:1280–1289.