

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA DEL CLORHIDRATO DE ZILPATEROL (ZILMAX®) SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE RUMIANTES CONSUMIENDO DIETAS ALTAS EN CONCENTRADO: TIEMPO DE RETIRO (BOVINOS) Y DOSIS SUPLEMENTADA (OVINOS)

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA

JUAN CARLOS ROBLES ESTRADA

ASESORES PRINCIPALES

**ALEJANDRO PLASCENCIA JORQUERA
NOEMÍ GUADALUPE TORRENTERA OLIVERA**

COMITÉ

**ALFREDO ESTRADA ANGULO
JOSÉ FERNANDO CALDERÓN CORTÉZ
RICHARD A. ZINN**

Mexicali, Baja California.

Agosto, 2009

Ésta tesis se realizó bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para la obtención del grado de:

Doctor en Ciencias Agropecuarias

Consejo Particular

DR. ALEJANDRO PLASCENCIA JORQUERA
DIRECTOR DE TESIS

DRA. NOEMÍ GUADALUPE TORRENTERA OLIVERA
CO-DIRECTOR

DR. ALFREDO ESTRADA ANGULO
SINODAL

Ph. D. RICHARD AVERY ZINN
SINODAL

DR. JOSÉ FERNANDO CALDERÓN CORTÉS
SINODAL

CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE GRÁFICAS	ii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Agonistas adrenérgicos tipo beta (AAB)	3
Mecanismo de acción.....	3
Crecimiento del músculo esquelético.....	5
Hipertrofia muscular y tipo de fibras.....	5
Células satélite Musculares.....	6
Síntesis de proteína muscular.....	7
Degradación de proteína muscular.....	8
Tejido adiposo.....	8
Eficacia de los AAB en la producción de carne de bovinos	9
Clorhidrato de zilpaterol y eficiencia en corral.....	9
Clorhidrato de zilpaterol y eficiencia en la canal.....	11
Clorhidrato de zilpaterol y tiempo de suministro.....	12
Clorhidrato de zilpaterol y tiempo de retiro.....	14
Eficacia de los AAB en la producción de carne de ovinos	15
Efecto del clorhidrato de zilpaterol en ovinos de carne.....	15
CONCLUSIONES	17
LITERATURA CITADA	18
EXPERIMENTO I	23
Abstract	24
Introduction.....	25
Materials and Methods	25
Results and Discussion	28
Literature cited	32
EXPERIMENTO II	40
Abstract	41
Introduction	42
Materials and Methods	43
Results	45
Discussion	46
Conclusions	48
References	49

LISTA DE CUADROS

	Página
REVISIÓN DE LITERATURA	
Cuadro 1. Comportamiento de ganado suplementado con zilpaterol.....	10
Cuadro 2. Respuesta de novillos con diferentes AAB.....	10
Cuadro 3. Efecto del zilpaterol en las características de la canal.....	11
Cuadro 4. Respuesta de novillos con el clorhidrato de zilpaterol y ractopamina.....	13
Cuadro 5. Efecto de distintos tiempos de retiro del zilpaterol.....	14
EXPERIMENTO I	
Table 1. Composition of experimental diets fed to heifers.....	35
Table 2. Treatments effects on growth performance responses in feedlot heifers.....	36
Table 3. Treatments effects on carcass characteristics in feedlot heifers...	37
Table 4. Treatments effects on growth performance responses in feedlot heifers.....	38
Table 5. Treatments effects on carcass characteristics in feedlot heifers.....	39
EXPERIMENTO II	
Table 1. Effect of zilpaterol supplementation on growth performance responses in feedlot lambs.....	52
Table 2. Effect of zilpaterol supplementation on carcass characteristics in feedlot lambs.....	53

LISTA DE GRÁFICOS

REVISIÓN DE LITERATURA

	Página
Gráfica 1. Zilpaterol: Tiempo de suministro y ganancia de peso en bovinos.....	12
Gráfica 2. Zilpaterol: Tiempo de suministro y eficiencia alimenticia en bovinos.....	13

INTRODUCCIÓN

La administración del agonista adrenérgico tipo beta clorhidrato de zilpaterol ha demostrado mejorar la ganancia diaria de peso (13 - 28 %), la conversión alimenticia (15 - 38 %), el rendimiento de la canal (2 - 12 %) y el grado de rendimiento en cortes cuando se dosifica a razón de 60 mg/cab/día los últimos 30 días antes del sacrificio en bovinos productores de carne (Jhonson, 2004; Avendaño et al., 2006; Plascencia et al., 2008). Aún cuando la respuesta productiva es consistentemente positiva en bovinos que consumen zilpaterol, el rango de respuesta sobre los grupos testigos es muy amplio. El nivel de respuesta es afectado por la dosis, la duración de tratamiento y la densidad energética de la dieta (Moody et al., 2000; Jhonson, 2004). Sin embargo, en estudios realizados en México, con ganado similar en cuanto a características de raza, alimentación, duración de tratamiento y dosis de zilpaterol, la alta variación en el nivel de respuesta persiste. Para mantener un máximo de nivel de respuesta se requiere de una concentración plasmática mínima del compuesto y dada las características de su rápida eliminación (72 h, Shelver y Smith, 2006) el tiempo de retiro puede ser un factor que contribuya a la variación de la respuesta cuando este compuesto es utilizado en la industria ganadera.

Aún cuando el uso del clorhidrato de zilpaterol en ovinos no está legalizado, se han realizado distintos experimentos en ovinos para determinar el efecto del compuesto en la fase de finalización, la dosis utilizada en esos experimentos fue considerada, utilizando como base, la décima parte (6 mg/kg de MS) de la probada en bovinos. Como resultado de que los ovinos en finalización consumen, en base a su peso vivo, de un 10 a un 15% más de MS que los bovinos, es de esperar que la dosis final consumida en esos experimentos exceda a la especificada para bovinos. Adicionalmente, la respuesta obtenida en esos estudios ha sido inconsistente (López et al., 2003; Félix et al., 2005).

Considerando que, la variación en el margen de respuesta que se obtiene en los corrales de engorda de bovinos es elevado y, dada la escasa información

existente sobre la respuesta de este tipo de compuesto en ovinos, se hace necesario evaluar los factores que afectan el nivel de respuesta de este compuesto, el tiempo de retiro en bovinos y de igual manera determinar la dosis óptima en ovinos cuando es utilizado en las dietas de finalización de ambas especies.

Con la finalidad de evaluar el tiempo de retiro (bovinos) y dosis suplementada (ovinos) como posibles factores que afectan el nivel de respuesta de la producción de carne de rumiantes al utilizar el agonista adrenérgico tipo beta clorhidrato de zilpaterol, se llevaron a cabo experimentos sobre comportamiento productivo y características de la canal en ambas especies.

REVISIÓN DE LITERATURA

AGONISTAS ADRENÉRGICOS TIPO BETA

Ricks et al. (1984) informaron que el compuesto clenbuterol utilizado como aditivo alimenticio modifica el crecimiento en bovinos productores de carne, incrementando el desarrollo del músculo a expensas de la acreción de tejido adiposo. Este compuesto posee una estructura similar a las catecolaminas endógenas, adrenalina y noradrenalina, razón por la cual se le asignó el término de agonista adrenérgico beta (AAB), debido a la alta afinidad que tiene por los receptores adrenérgicos de ese tipo; los cambios en la proporción de músculo y grasa que produce en la canal hace que se refiera a este compuesto como agente de repartición (Beermann, 2002; Jhonson, 2004). Desde entonces numerosos estudios han evaluado otros AAB como el clorhidrato de ractopamina, el clorhidrato de zilpaterol, el cimaterol y el L-644,969, que presentan actividad de repartición en diferentes especies, incluyendo el ganado productor de carne (Jhonson, 2004; Avendaño-Reyes et al., 2006).

El clorhidrato de zilpaterol (Zilmax ®) que en adelante llamaremos solamente zilpaterol, es un agonista adrenérgico tipo beta de administración oral, aprobado para su uso en México (1996) y en Estados Unidos (2006). La administración de este compuesto mejora la ganancia diaria de peso, la conversión alimenticia, rendimiento de la canal y el grado de rendimiento en cortes cuando se dosifica a razón de 60 mg/cab/día los últimos 30 días antes del sacrificio en bovinos productores de carne (Plascencia et al., 2008).

Los niveles de zilpaterol en los tejidos disminuyen rápidamente durante el periodo de retiro, teniendo una vida media de eliminación de 12.5 h, donde el 60 % de la dosis administrada se excreta en las primeras 24 h y 90 % a las 48 h. Shelver y Smith (2006) informan una vida media de 15.3 h en ovinos.

Mecanismo de acción

Los AAB enlazados con los receptores adrenérgicos beta (RAB) producen un efecto biológico. Investigaciones indican la presencia de diferentes subtipos de

receptores, siendo esto un factor que podría explicar la diferencia en potencia y eficacia de los distintos AAB (Beermann, 2002; Jhonson, 2004).

Dos tipos de receptores adrenérgicos fueron descubiertos y clasificados, los α y los β . Además se revelaron tres subtipos de RAB, los β_1 , β_2 y β_3 . La mayoría de las células de los mamíferos contienen los RAB, pero la distribución y número de cada subtipo varía entre los diferentes tejidos en las mismas especies, esto explica las diferencias en magnitud del efecto biológico en los tejidos del mismo animal; adicionalmente la distribución de los subtipos de RAB puede variar en determinado órgano blanco o tejido en diferentes especies, asimismo esto explica en parte la diferencia en las respuestas biológicas de algunos compuestos administrados en dos especies; finalmente muchos tejidos expresan diferencias en la proporción de RAB₁ y RAB₂ por lo que esto complica aun mas la comprensión del mecanismo de acción de los AAB (Mersmann, 1998)

Los RAB son miembros de la familia de receptores que funcionan mediante unión a las proteínas G_s. El enlace del AAB con el RAB produce cambios en la conformación de la membrana, el RAB se une a la proteína Gs (del inglés GTP binding protein) que activa la adenilato ciclasa para sintetizar AMPc. El AMP cíclico regula la actividad de la proteína kinasa A. Esta proteína es responsable de la fosforilación de enzimas claves involucradas en diferentes efectos biológicos. La fosforilación puede causar activación o inactivación de numerosas enzimas. Adicionalmente la proteína kinasa A es el factor que se une al DNA y regula la transcripción del DNA a RNAm (Jhonson, 2004; Sumano et al., 2002).

El dominio intracelular de los RAB tiene como objetivo la fosforilación de la Proteína Kinasa A, donde la fosforilación causa una separación del RAB de la Proteína Gs, que a su vez inactiva el receptor; este fenómeno es frecuentemente referido como “desensibilización aguda”. La exposición crónica de altas dosis de AAB casi siempre resulta en la internalización y baja regulación de los RAB (Jhonson, 2004).

Crecimiento del músculo esquelético

El rápido incremento en la cantidad de proteína del músculo esquelético es uno de los efectos biológicos más consistentes observados cuando se administran AAB al ganado productor de carne (Preston, 2004)

La hipertrofia muscular puede ser definida como crecimiento en tamaño (diámetro y longitud) de las fibras; en la práctica la hipertrofia muscular se evalúa en tamaño (área) y peso individual (Jhonson, 2004). Aunque la administración de AAB produce rápidos resultados en el crecimiento de la masa muscular, los mecanismos de acción por el cual causan este efecto preferencial en el músculo esquelético es aun poco conocido; los mecanismos propuestos incluyen efectos directos de los AAB por medio de los RAB sobre el músculo, efectos indirectos sobre otras células que producen factores importantes para el desarrollo muscular o la combinación de efectos directos e indirectos (Beermann, 2002; Jhonson, 2004).

Hipertrófia muscular y tipos de fibras

La administración de 10 a 500 mg/cab/d de Clenbuterol a novillos, incrementa el área del músculo *longissimus* de la 12^{va} costilla de 11 a 16%, respectivamente, comparado con los no tratados (Ricks et al., 1984). Schiavetta et al. (1990) mencionan un incremento de 28% de área del músculo *longissimus* de canales de novillos alimentados con 7 mg/cab/d de clenbuterol durante 50 d, comparados con novillos del grupo testigo. Adicionalmente el peso obtenido del músculo *longissimus* de la 9-10-11^{va} costilla, fue 25% mayor en canales de novillos alimentados con clenbuterol, comparados con el grupo testigo.

Para comprender mejor los efectos del clenbuterol en la hipertrófia muscular de ganado productor de carne, Miller et al. (1988) mencionan un incremento en el diámetro de las fibras musculares tipo II y una reducción de diámetro de las fibras tipo I en vaquillas que recibieron 10 mg/cab/d de clenbuterol esto comparado con el grupo no tratado. Al respecto, Smith et al. (1995) observaron que el diámetro promedio de fibras musculares SDH-positivo (tipo II A) fue elevado en novillos alimentados con clenbuterol comparados con los testigos. Todos los datos nos

demuestran que los AAB producen una hipertrofia muscular, específicamente las fibras tipo II A son las que responden a la administración de estos compuestos.

Células satélite musculares

Las células satélite son mononucleadas, se encuentran entre el sarcolema y la lámina basal de la fibra muscular (Mauro, 1961). Moss y Leblon (1970) observaron que los núcleos dentro de las fibras musculares multinucleadas no sintetizaban DNA por mucho tiempo. Continuando con el trabajo Moss y Leblon (1971), encontraron que las células satélite fueron capaces de proliferar y que una proporción de esas células hijas se fusionaban en las fibras musculares multinucleadas, esto establece que las células satélite son fuente de núcleos para la hipertrofia muscular. A partir de este trabajo las células satélite mostraron ser importantes para mantener el desarrollo muscular postnatal en numerosas especies (Campion, 1984).

El número de fibras es fijo al nacimiento en la mayoría de los mamíferos y los núcleos dentro de las fibras musculares carecen de potencial mitótico, las células satélite proveen de DNA necesario para la hipertrofia muscular en el desarrollo postnatal. Se ha estimado que del 60 al 90% del DNA de una fibra muscular madura se ha originado en las células satélites, de esta manera la proliferación de células satélite y la consecuente fusión en las fibras musculares proveen el DNA requerido para la hipertrofia de la fibra, la cual puede tener una tasa límite, este es un paso crítico para el desarrollo muscular. Incrementando la proliferación de las células satélite o el número de células en proliferación puede mejorar la eficiencia del desarrollo muscular (Jhonson, 2004).

Debido al incremento dramático de la hipertrofia muscular posterior a la administración de AAB en ganado productor de carne, se puede esperar que la proliferación de las células satélite y la consecuente fusión de estas en las fibras musculares proporcionan DNA para incluirlo en el proceso; de cualquier forma el total de DNA muscular de animales tratados con AAB es inalterado, y la concentración de DNA de músculos individuales es a menudo reducido debido al incremento dramático de masa en esos músculos y no al cambio de contenido de DNA (O'Connor et al., 1991).

Algunas investigaciones han sido conducidas para evaluar los efectos directos de los AAB sobre la proliferación y diferenciación de células musculares. Al respecto, la ractopamina mostró incrementar el número de miotubos nucleados en cultivos primarios de células satélite de pollo, al final del periodo de cultivo se mejoró la tasa de proliferación de las células satélite. (Grant et al., 1990); asimismo, la dosis farmacológica de ractopamina ($10 \mu M$) estimula la tasa de proliferación de mioblastos C₂ y C₁₂ aproximadamente en 30% (Shappell et al., 2000).

Otros factores que contribuyen a la hipertrófia muscular pueden ser alterados con la administración de AAB. Por ejemplo un aumento en la síntesis de la proteína muscular, una reducción en la degradación de la proteína muscular o la combinación de ambos puede ser efecto de los AAB al incrementar la masa muscular (Jhonson, 2004).

Síntesis de proteína muscular

La ractopamina incrementa fraccionadamente la tasa de síntesis de proteína en cerdos (Bergen et al., 1989), además de que induce el incremento de proteína en las células musculares, debido en parte al incremento total y a la tasa de síntesis de proteína. Un AAB₁, la ractopamina, no alteró la degradación de proteína en cultivos de células musculares (Anderson et al., 1990). Estos autores, concluyen que la ractopamina mejora la acreción de proteína muscular debido al incremento de la síntesis de proteína con un efecto no detectable sobre la degradación de proteína. Adicionalmente la ractopamina incrementa la miosina de cadena ligera de RNAm en el músculo *longissimus*, en ganado de carne aproximadamente el quintuple comparado con el ganado no tratado (Smith y et al., 1989). Asimismo, el clenbuterol incrementa los niveles de miosina cadenas ligeras de RNAm después de 50 d de tratamiento comparado con los novillos del grupo testigo (Smith y et al., 1995). Este incremento de proteína RNAm puede ser el resultado inducido de los AAB en la transcripción genética o el incremento en la estabilidad de RNAm.

Degradación de la proteína muscular

La tasa de degradación de proteína puede también impactar en la acreción de proteína en el músculo esquelético; a menudo la tasa de degradación de proteína es calculada por diferencias entre la acreción de proteína y la tasa de síntesis fraccional (Beermann, 2002). La mayoría de los trabajos realizados sobre la degradación de proteína han sido conducidos con el AAB₂ L-644,969, este causa la reducción del 27 % en la tasa de degradación de proteína fraccional en novillos comparados con el grupo testigo. La actividad de inhibidor específico de las calpainas, las calpastatinas es elevado en muestras de músculo de bovinos alimentados con L-644,969 (Wheeler y Koohmaraie, 1992).

La reducción en la tasa de degradación de la proteína, es la base para observar como se reduce la terneza de la carne de animales tratados con AAB. El efecto que produce al reducir la terneza es preocupante por el potencial negativo que puede tener sobre la demanda de carne, especialmente de res. La alimentación con 200 mg/cab/d de ractopamina en vaquillas y novillos, no tuvo efecto en la terneza, pero al incrementar la dosis a 300 mg/cab/d los valores de esfuerzo de corte también se incrementaron, comparados con el grupo testigo (Schroeder et al., 2003). Esta reducción en la blandura con ractopamina a 300 mg/cab/d, es algo sorprendente debido a la preponderancia de datos que sugieren que la ractopamina no tiene efecto sobre la tasa de degradación de proteína en el músculo esquelético. De cualquier modo se puede indicar que a dosis altas de ractopamina un AAB₁ puede ligarse a un RAB₂.

Tejido adiposo

En adición al rápido incremento de la masa muscular posterior a la administración de estos compuestos, otro efecto óbvio es la significativa reducción del tejido adiposo en la canal (Mersmann, 1998). Muchos científicos están de acuerdo que los AAB, inducen la reducción del tejido adiposo, este efecto es causado directamente por el enlace al receptor del tejido adiposo. Específicamente estimulan la hidrólisis de los triglicéridos (lipólisis) y reduce la síntesis de ácidos grasos (lipogénesis). Las enzimas responsables para la lipólisis y la lipogénesis, son

objetivos de los AAB que inducen fosforilación por la proteína kinasa A (Jhonson, 2004).

EFICACIA DE LOS AAB EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE BOVINO

Clorhidrato de zilpaterol y eficiencia en corral

Es importante mencionar que el clorhidrato de zilpaterol y ractopamina están autorizados para uso solo en México, Sudáfrica y en los Estados Unidos de América (Vasconcelos et al., 2008), el resto de los compuestos se utilizan en pruebas experimentales o para el uso de fármacos de línea humana. Diversos experimentos han sido desarrollados para determinar el efecto de AAB₂ zilpaterol (Zilmax[®]) en la respuesta productiva de bovinos; las primeras investigaciones realizadas en México (Barajas et al., 1998; Garcés et al., 1998) mostraron que cuando se administraba este compuesto a una concentración de 6 ppm en el alimento de bovinos finalizados se mejoró entre un 5 a 5.5 % el peso final, de un 25 a 28 % la ganancia de peso diario y la conversión alimenticia en 28 %; Posteriormente Plascencia et al. (2008), realizaron un experimento similar confirmando la eficacia de este compuesto obteniendo resultados similares.

Posteriormente se realizaron un conjunto de experimentos en los Estados Unidos de América, para aprobar el uso de este compuesto en ese país (NADA 141-258; FDA, 2006); dichos trabajos consideraban pruebas de comportamiento productivo (efecto de sexo), dosis efectiva, duración del tratamiento, características de la canal, calidad de la carne y aquellas que determinan la seguridad animal e inocuidad de los productos de consumo humano. En el cuadro 1 se resumen los resultados de comportamiento productivo y características de canal de 3 experimentos realizados con 480 novillos y 480 vaquillas.

Cuadro 1. Comportamiento de ganado suplementado con zilpaterol.

Variables	Zilpaterol g/ton (ppm) 90 % de MS		
	0 (0)	6.8 (7.5)	Valor P ^c
Ganancia de peso diario (kg)	1.18	1.50	--- ^d
Consumo / ganancia	7.59	5.71	--- ^d
Proteína canal %	13.38	14.10	< 0.0001
Rendimiento canal %	60.3	61.8	0.004
Peso canal caliente kg	337.2	351.5	--- ^e
Área ojo costilla (Plg 2)	13.23	14.35	<0.0001
Grado rendimiento	2.81	2.52	0.005
Espesor grasa dorsal	0.49	0.47	0.178
Grado marmoleo ^b	4.62	4.31	--- ^e

^b Grado de marmoleo de 4 = poco, 5 = moderado, de acuerdo USDA

^c Efecto global de los tratamientos

^d Significancia de sexo e interacción con tratamiento

^e Significancia de duración e interacción con tratamiento

Información obtenida del documento de NADA 141-258; FDA, 2006

Los resultados obtenidos en comportamiento en corral fueron similares a los obtenidos en los trabajos realizados anteriormente en México; 25 y 27 % de mejora en ganancia y eficiencia alimenticia respectivamente.

Cuadro 2. Respuesta de novillos con diferentes AAB.

Compuesto	Dosis ^a	Días	GDP ^b	CA ^c	Consumo	Rendimiento Canal	Músculo	Grasa
Testigo=100								
Clenbuterol	10	98	91	101	93	101	111	65
Clenbuterol	7	50	134	67	101	101	128	91
L-644,969	7.5	84	117	80	94	107	113	71
Ractopamina	200	42	111	90	100	101	102	98
Ractopamina	200	28-42	120	84	100	101	104	95
Zilpaterol	50	52	113	85	98	104	112	82

Modificado de: Jhonson, 2004.

^a Dosis en mg/cab/día

^b Ganancia diaria de peso

^c Conversión alimenticia

Los rangos obtenidos en el comportamiento y características de la canal en el cuadro anterior se dan bajo distintas condiciones de compuestos, dosis y días de

administración, con respecto a esto Mersmann (1998), afirma que en los estudios de corta duración se observan mejores ganancias de peso, esto puede implicar que dosis de larga y constante exposición de AAB puede resultar en insensibilización del receptor y pérdida de potencial, como sucede en el caso del AAB₂ clenbuterol, donde se administró durante 98 días, y se registró menor ganancia de peso y menor consumo de alimento comparado con el testigo.

Clorhidrato de zilpaterol y eficiencia en la canal

El zilpaterol ha mostrado ser un agente de repartición de energía, incrementando la masa muscular y a su vez disminuyendo la deposición de grasa corporal (Mersmann, 1998; Leheska et al., 2008). En el cuadro 2 (Johnson, 2004) se observa como distintos AAB mejoran el porcentaje de músculo de un 2-11 % y disminuyendo de un 9-35 % el tejido adiposo.

Cuadro 3. Efecto del zilpaterol en las características de la canal.

	Vasconcelos et al., 2008	Kellermejer et al., 2009	Hilton et al, 2008	Elam et al, 2009	Montgomery et al., 2008
Variables ^a					
Canal caliente	4.4	5.4	*	4.1	4.6
Rendimiento canal	1.9	*	*	1.6	1.6
Área ojo de la costilla	10.5	12.6	8.9	10.7	9.7
Espesor de grasa dorsal	-14.7	*	-22.8	-8.4	*
Grado de rendimiento ^b	2.47	0.44	0.69	0.45	0.35

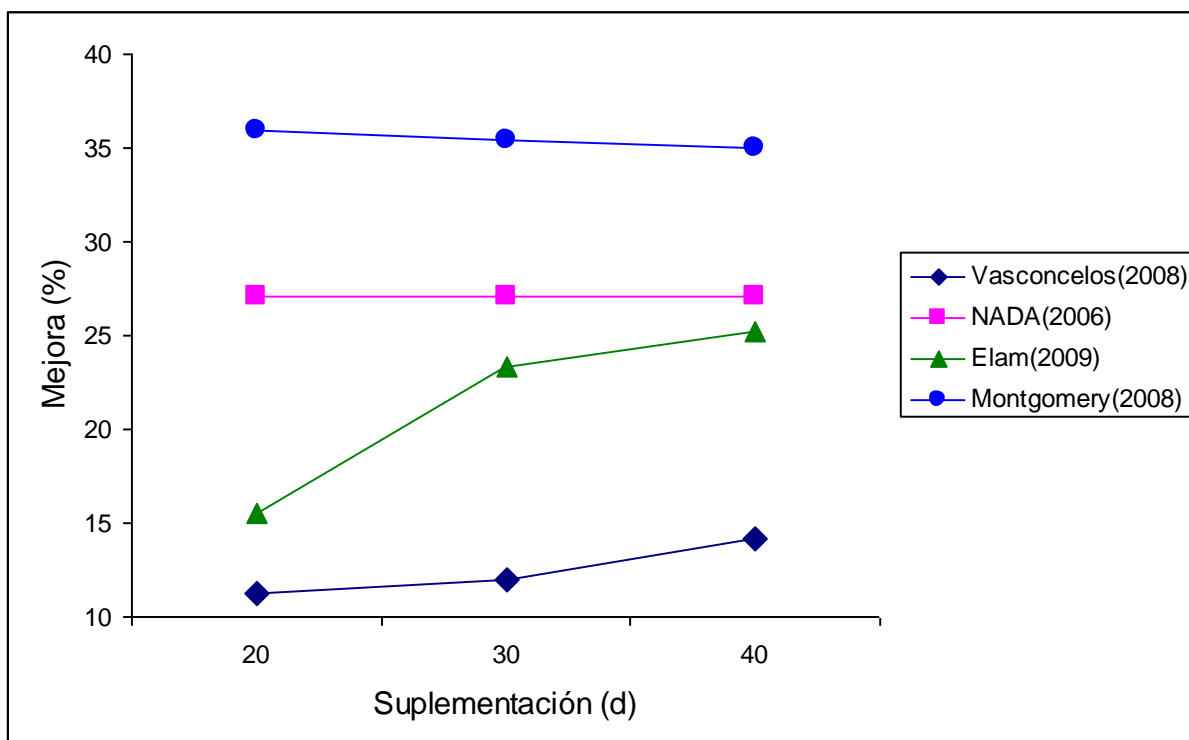
^a Todos los resultados P < 0.01

^b Diferencia de puntuación

Los resultados en el cuadro 3 son la diferencia porcentual del efecto del zilpaterol en las características de la canal. El aumento en la síntesis de proteína muscular o disminución de la degradación de proteína (Beermann, 2002), da como resultado el aumento de la proteína total de la canal y canales mas pesadas, que a su vez resulta en un aumento en el rendimiento en cortes primarios (Boler et al., 2009)

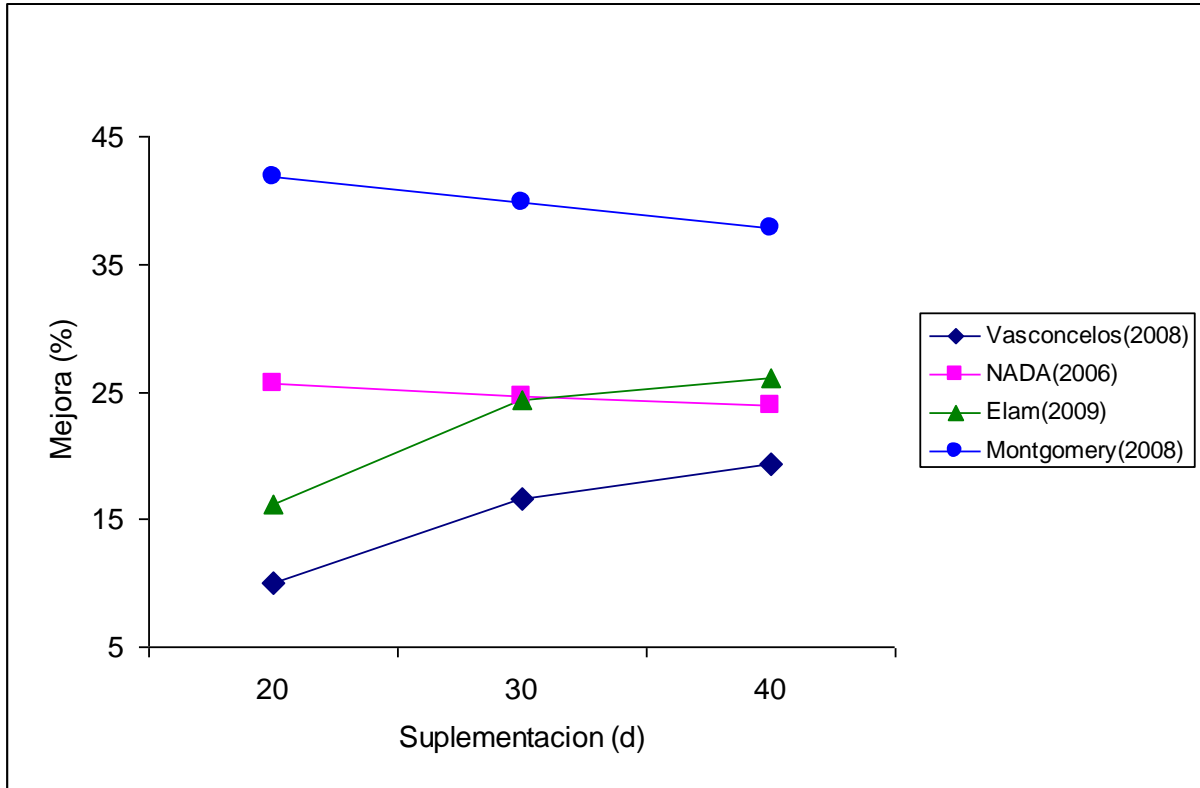
Clorhidrato de zilpaterol y tiempo de suministro

En las siguientes gráficas (1 y 2) se puede observar el efecto de los días de suplementación del zilpaterol sobre la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia. Para realizarla, se reunieron los resultados de investigación de distintos autores (NADA 141-258; FDA, 2006; Montgomery et al., 2008; Vasconcelos et al., 2008 y Elam et al., 2009) y los cuales evaluaron desde 20 hasta 40 días el uso del zilpaterol en la alimentación de bovinos.



Gráfica 1. Zilpaterol: Tiempo de suministro y ganancia de peso en bovinos.

Tanto en ganancia de peso como en la eficiencia alimenticia podemos observar que las tendencias en la eficiencia es distinta entre autores, esto cuando comparamos 20, 30 y 40 días de suministro, sin embargo al comparar 30 vs. 40 la tendencia es a mantenerse o incluso a disminuir el nivel de respuesta, razón por la cual es lógico pensar que el mejor balance entre costo y beneficio se encuentra entre los 20 y 30 días de suministro, esto es respaldado por la tendencia que hay



Gráfica 2. Zilpaterol: Tiempo de suministro y eficiencia alimenticia en bovinos.

con el zilpaterol y el clorhidrato de ractopamina a disminuir el nivel de respuesta de la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia (Cuadro 4) conforme se aumenta los días de suministro. Por lo tanto y para confirmar esta suposición es importante se realice mayor investigación al respecto que ayude a mejorar la comprensión de los factores que afecten la respuesta del zilpaterol entre 20 y 30 días de suplementación.

Cuadro 4. Respuesta de novillos con el clorhidrato de zilpaterol y ractopamina.

Compuesto	Dosis ^a	Días	GDP ^b	CA ^c	Consumo	Músculo	Grasa
Testigo=100							
Zilpaterol	50	52	113	85	98	112	82
Zilpaterol	50	42	126	72	99	104	96
Zilpaterol	60	30	126	64	99	102	91
Ractopamina	200	42	111	90	100	102	98
Ractopamina	200	28	120	84	100	104	95

Modificado de: Jhonson, 2004; Avendaño et al., 2006; Plascencia et al., 2008.

^a Dosis en mg/cab/día

^b Ganancia diaria de peso

^c Conversión alimenticia

Clorhidrato de zilpaterol y tiempo de retiro

Cuadro 5. Efecto de distintos tiempos de retiro del zilpaterol.

	Días retiro				Valor P
	3	10	17	24	
Peso Inicial kg	356.5	356	356.5	356.9	0.32
Peso Final kg	571.5	579.2	583.7	590.1	0.008
Peso Final ajuste canal	572.4	579.2	584.6	590.1	0.003
GDP ^a kg	1.60	1.44	1.33	1.30	0.03
GDP ajuste canal	1.65	1.43	1.35	1.28	0.003
Consumo kg	9.66	10.34	9.75	9.66	0.02
C:G ^b	6.63	7.25	7.60	7.82	0.11
C:G ajuste canal	6.36	7.33	7.58	8.19	0.05

Modificado de: Holland et al., 2008

^a Ganancia diaria de peso

^b Conversion alimenticia: Consumo/ganancia

La utilización del zilpaterol requiere de un tiempo de retiro (3 - 5 d) antes de sacrificio que asegure la eliminación de residuos en los tejidos destinados a consumo humano. Sucede con frecuencia que los animales que han cumplido con el tiempo de retiro no pueden ser enviados a sacrificio a tiempo, por problemas en la comercialización o falta en la organización administrativa (Holland et al., 2008). Considerando que el zilpaterol es eliminado en un 95 % las primeras 72 horas post-retiro y además se desconoce el efecto negativo que puede tener el aumento de los días de retiro en el comportamiento productivo, Holland et al. (2008) realizaron un experimento para determinar el efecto de distintos tiempos de retiro en la productividad. Se observó ciertamente una reducción lineal en el nivel de respuesta de la ganancia diaria de peso y la eficiencia productiva; concluyendo que el tiempo de retiro afecta negativamente la eficiencia productiva. Sin embargo considerando de nuevo la rápida eliminación del ingrediente activo y en vista que la mayor caída en la eficiencia se da entre los 3 y 10 días de retiro sería importante determinar que sucede entre este rango y su efecto sobre la respuesta productiva.

EFICACIA DE LOS AAB EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE EN OVINOS

Varios experimentos han sido desarrollados en ovinos de engorda intensiva utilizando AAB. Para probar el efecto de un AAB en el desarrollo muscular y características de canal, Koochmaraie et al. (1991), utilizó 16 ovinos castrados, los cuales fueron asignados al azar para recibir 0 y 4 ppm de L-644,969; los animales recibieron alimento concentrado a base de 59.8 % de grano maíz durante 6 semanas. El peso del *bíceps femoris* fue 18.6 % mayor en los ovinos tratados, el peso final fue similar entre tratamientos 41.6 y 43.2 ($P > 0.05$), mientras que la ganancia diaria de peso fue 16 % mejor en los animales tratados (0.18 y 0.21 kg; $P < 0.05$). Para las características de canal, el peso de la canal caliente (22.2 y 23.7 kg) y grasa de riñón y pelvis 4.6 y 4.4 % no mostraron ($P > 0.05$) efecto de inclusión del AAB, sin embargo, el espesor de grasa dorsal fue menor ($P < 0.05$) con 5.3 y 3.7 mm, respectivamente para 0 y 4 ppm de L-644,969 para todas las características.

Utilizando el mismo AAB, Shackelford et al. (1992) incluyeron en la dieta 1 ppm a ovinos Rambouillet finalizando a los 54 kg promedio. Los promedios de peso final (55.8 vs. 56.1 kg), ganancia diaria de peso (0.25 vs. 0.26 kg/d) y conversión alimenticia (6.8 vs. 7.0) no presentaron diferencias ($P > 0.10$) entre tratamientos, de la misma forma no presentó efecto ($P > 0.10$) para peso de canal caliente (30.6 vs. 31.5) y porcentaje de rendimiento (55.9 vs. 56.2).

Efecto de clorhidrato de zilpaterol en ovinos de carne

Otros trabajos han sido realizados con el zilpaterol un AB_2A , Félix et al. (2005) lo utilizaron en 4.5 y 6.7 ppm en ovinos de peso promedio de 23.5 kg durante 28 días, con una dieta conteniendo 14.5 % de PC y 3.6 Mcal ED / kg de MS, obtuvieron un peso final de 37.58 y 37.33 kg, ganancias diarias de peso de 0.217 y 0.237 kg, y una conversión alimenticia de 6.03 y 5.56, respectivamente no encontrando diferencia en ninguna variable ($P > 0.10$).

De forma similar López et al. (2003), condujeron un trabajo durante 42 días para evaluar el efecto del zilpaterol a 6 ppm, solo y combinado con 12 mg de zeranol, en la primera etapa de engorda de ovinos de pelo, con peso promedio de 16.84 kg, la

dieta en base seca consistió en 79 % de sorgo, 4 % de melaza, 9.3 % soya, 6 % urea, 2.1 % de premezcla mineral y 5% de forraje; se registró la ganancia diaria de peso de 0.323 y 0.257 kg, el espesor de grasa dorsal de 0.341 y 0.415 cm, además el área del ojo de la costilla de 5.43 y 5.8 cm², respectivamente, no se mostró diferencia entre tratamientos ni con el grupo testigo ($P > 0.05$).

Salinas et al. (2004 y 2006), en el primero de sus experimentos probaron el efecto del zilpaterol en ovinos Pelibuey, quienes en contraste con otros autores mostró una respuesta positiva; ellos evaluaron dos dosis, teniendo tres tratamientos (0, 4.35 y 6 µg/g de materia seca). Las dos dosis tuvieron igual ($P < 0.05$) consumo de materia seca (1.470 y 1.375 kg/d), ganancia de peso (0.365 y 0.347 kg/d) y conversión alimenticia (4 y 4 respectivamente para 4.35 y 6 µg/g de materia seca); sin embargo, ambas dosis fueron diferentes ($P < 0.05$) en los animales del grupo testigo en las mismas características (1.175 kg, 0.140 kg/ y 9, respectivamente), todos los ovinos depositaron la misma cantidad de grasa subcutánea ($P > 0.05$) y para área de ojo de la costilla, el tratamiento con 6 µg fue mejor ($P < 0.05$) que los tratamientos con 4.35 µg y 0 (9.8, 11.2 y 14.2 cm²). En un segundo experimento evaluaron dos tiempos de suministro (20 y 30 d) del zilpaterol (10 ppm) como suplemento en ovinos en pastoreo con un peso promedio inicial de 21.42 kg. El contraste del grupo con zilpaterol redujo ($P < 0.05$) el espesor de grasa dorsal con respecto al testigo (0.28 vs 0.24 cm), sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para el resto de las variables.

Un trabajo mas reciente (Robles et al., 2009) evaluó el efecto del clorhidrato de ractopamina (20 ppm) y zilpaterol (6 ppm) en la respuesta productiva de ovinos engordados en corral. Comparado con el testigo la ractopamina solo mejoró la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia (252 vs 218 g/d); pero el peso final (43.1 vs 41.1) la ganancia de peso (275 vs 218 g/d) y la eficiencia alimenticia fue mejor en el grupo con zilpaterol. No se informaron diferencias en las características de la canal, excepto en grasa renal pélvica que se redujo para el tratamiento con zilpaterol con respecto al testigo y ractopamina (2.27 vs 2.84 %).

Analizando el grupo de experimentos realizados con zilpaterol en ovinos se determina lo siguiente: Mersmann (1998), indica que existen diversos factores que afectan la respuesta de los agentes adrenérgicos tipo beta, por lo tanto podemos concluir que la suplementación e investigación del zilpaterol debe darse tomando en cuenta: mejores condiciones de peso o madurez corporal de acuerdo a la raza, estimar las dosis del zilpaterol considerando las diferencias en el metabolismo y el consumo de alimento de los pequeños rumiantes y los sistemas de alimentación.

CONCLUSIÓN

El uso de agentes reparticionantes ha demostrado mejorar la eficiencia productiva y las características de la canal de ganado bovino productor de carne, mientras que en la especie ovina los resultados han sido inconsistentes. Considerando los beneficios que aporta el uso de este compuesto a la producción de carne de bovino y las necesidades de investigación en la especie ovina, es importante se siga investigando la participación de los factores que pueden afectar el nivel de respuesta de los principales agonistas adrenérgicos autorizados.

LITERATURA CITADA

- Anderson, P. T., W. G. Helferich, L. C. Parkhill, R. A. Merkel, W. G. Bergen. 1990. Ractopamine increases total and myofibrillar protein synthesis in cultured rat myotubes. *J. Nutr.* 120:1677-1683.
- Avendaño-Reyes, L.; V. Torres-Rodríguez, F. J. Meraz-Muriño, C. Perez-Linarez, F. Figueroa-Saavedra and P. H. Robinson. 2006. Effects of two Beta-adrenergic agonist on finish performance, carcass characteristics, and meet quality of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84:3259-3265.
- Barajas, C. R., A. R. Virgilio, P. G. Contreras y P. O. R. Monárrez. 1998. Efecto del clorhidrato de zilpaterol (zilmax) sobre la respuesta productiva de toretes cebu finalizados en trópico seco. XXXIV Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Queretaro. México. p. 144.
- Beermann, D. H. 2002. Beta-Adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 80 (E. Suppl. 1): E18-E23.
- Bergen, W. G., S. E. Johnson, D. M. Skjaerlund, A. S. Babiker, N. K. Ames, R. A. Merkel, and D. B. Anderson. 1989. Muscle protein metabolism in finishing pigs fed ractopamine. *J. Anim. Sci.* 67:2225-2262.
- Boler, D. D., S. F. Holmer, F. K. McKeith, J. Killefer, D. L. VanOverbeke, G. G. Hilton, R. J. Delmore, J. L. Beckett, J. C. Brooks, R. K. Miller, D. B. Griffin, J. W. Savell, T. E. Lawrence, N. A. Elam, M. N. Streeter, W. T. Nichols, J. P. Hutcheson, D. A. Yates and D. M. Allen. 2009. Effect of feeding zilpaterol hydrochloride for 20 to 40 days on carcass cutability and subprimal yield of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* Published online Jul, 2, 2009.
- Campion, D. R. 1984. The muscle satellite cell: A review. *Int. Rev. Cytol.* 87:225-251.
- Elam, N. A., J. T. Vasconcelos, G. Hilton, D. L. VanOverbeke, T. E. Lawrence, T. H. Montgomery, W. T. Nichols, M. N. Streeter, J. P. Hutcheson, D. A. Yates and M. L. Galyean. 2009. Effect of zilpaterol hydrochloride duration of feeding on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 87:2133-2141.
- Félix, A., A. A. Estrada, F. G. Ríos, C. H. Ramos, and Pérez, A. B. 2005. Effect of zilpaterol clorhidrate on growth performance and carcass traits in sheep. *J. Anim. Sci.* 83: (Suppl. 1):63.
- Garcés, Y. P., R. Zinn, A. M. Rebolledo y C. C. Abreu. 1998. Efecto del clorhidrato de zilpaterol sobre la ganancia de peso y características de la canal de toretes

finalizados en pastoreo. XXXIV Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Querétaro. México. P 143.

Grant, A. L., W. G. Helferich, R. A. Merkel, and W. G. Bergen. 1990. Effects of phenethanolamines and propranolol on the proliferation of chick breast muscle satellite cells. *J. Anim. Sci.* 68:652-658.

Hilton, G. G., J. L. Montgomery, C. R. Krehbiel, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, J. R. Blanton, Jr and M. F. Miller. 2008. Effects of feeding zilpaterol hydrochloride with and without monensin and tylosin on carcass cutability and mear palatability of beef steers. *J. Anim. Sci.* 87:1394-1406.

Holland, B.P., J. N. Shook, L. O. Burciaga-Robles, C. R. Krehbiel, M. N. Streeter, G. G. Hilton, D. L. VanOverbeke, D. L. Step, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, and J. L. Montgomery. 2008. Extended Withdrawal of Zilpaterol Hydrochloride: Effects on Performance, Carcass Traits, Meat Tenderness, and Retail Cutout of Finishing Beef Steers. Plains Nutrition Council Spring Conference. San Antonio Texas. Pp 119
Jhonson, J. B. 2004. B-Adrenergic Agonist: Efficacy and potential mode of action in cattle. Plains Nutrition Council Spring Conference. April 15-16. San Antonio Texas. Texas & Research and Extension Center Amarillo. USA.

Jhonson, J. B. 2004. B-Adrenergic Agonist: Efficacy and potential mode of action in cattle. Plains Nutrition Council Spring Conference. April 15-16. San Antonio Texas. Texas & Research and Extension Center Amarillo. USA.

Kellermejer, J. D., A. W. Tittor, J. C. Brooks, M. L. Galyean, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, B. J. Johnson and M. F. Miller. 2009. Effects of zilpaterol hydrochloride with or without and estrogen-trenbolone acetate terminal implant on carcass traits, retail cutout, tenderness, and muscle fiber diameter in finishing steers. *J. Anim. Sci.* Published online jun 5, 2009.

Koohmaraie, M., S. D. Shackelford, N. E. Muggli-Cockett, and R. T. Stone. 1991. Effect of the B-Adrenergic agonist L-644-969, on muscle growth, endogenous proteinase activities, and postmortem proteolysis in wether lambs. *J. Anim. Sci.* 69:4823-4835.

Leheska, J. M., J. L. Montgomery, C. R. Krehbiel, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. Streeter, J. R. Blanton, Jr. And M. F. Miller. 2008. Dietary zilpaterol hydrochloride. II. Carcass composition and meat palatability of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 87:1384-1393.

- López, Z. R., S. O. Argudín y A. D. Anaya. 2003. Efecto de un β Adrenérgico solo y combinado sobre aumento de peso, grasa dorsal y área de rib eye en Ovinos Tabasco. Memorias XXVII Congreso Nacional de Buiatría, pp 240-241.
- Mauro, A. 1961. Satellite cell of skeletal muscle Fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9:493-495.
- Mersmann, H. J. 1998. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonist on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76:160-172.
- Miller, M.F., D. K. Garcia, E. Coleman, P. A. Ekeren, D. K. Luna, K. A. Wagner, M. Prochnor, T. H. Welsh, Jr., and S. B. Smith. 1988. Adipose tissue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-fed heifers. *J. Anim. Sci.* 66:12-20.
- Montgomery, J. L., C. R. Krehbiel, J. J. Cranston, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, D. T. Bechtol, E. Johnson, T. TerHune and T. H. Montgomery. 2009. Dietary zilpaterol hydrochloride. I. Feedlot performance and carcass traits of steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 87:1374-1383.
- Moody, D. E., D. L. Hancock and D. B. Anderson. 2000. Phenetanolamine repartitioning agents. Pages 65 – 96 in *Farm Animal Nutrition* J. P. F. D. Mello. ed CAB publishing, New York, NY.
- Moss, F. P., and C. P. Leblon. 1970. Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *J. Cell Biol.* 44:459-462.
- Moss, F. P., and C. P. Leblon. 1971. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat. Rec.* 170:421-435.
- NADA 141–258, FDA, 2006. Zilmax (zilpaterol hydrochloride) Type A medicated article for cattle fed in confinement for slaughter. <http://www.fda.gov/cvm/FOI/141-258o08102006>. pdf Accessed Feb. 4, 2008.
- O'Connor, R. M., W. R. Butler, K. D. Finnerty, D. E. Hoghe, and D. H. Beermann. 1991. Temporal pattern of skeletal muscle changes in lambs fed cimaterol. *Domest. Anim. Endocrinol.* 8:549-554.
- Plascencia, A., N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2008. Influence of the B-agonist, zilpaterol, on growth performance and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Vet. Adv.* 7 (10), 1257-1260.
- Preston, 2004. Feedlot management challenges and opportunities with B-agonist use. Plains Nutrition Council Spring Conference. April 15-16. San Antonio Texas. Publication N_o AREC 04-14. Texas & Research and Extension Center Amarillo.

- Ricks, C. A., R. H. Dalrymple, P. K. Baker, and D. L. Ingle. 1984. Use of β -Agonist to alter fat and muscle deposition in steers. *J. Anim. Sci.* 59:1247-1255.
- Robles-Estrada, J. C., A. Barreras-Serrano, G. Contreras, A. Estrada-Angulo, J. F. Obregón, F. G. Ríos and A. Plascencia. 2009. Effect of two β -adrenergic on finishing performance and carcass characteristics in lambs fed all-concentrate diets. *J. Appl. Anim. Res.* 35 (In press).
- Salinas, C. J., R. G. Ramirez, M. M. Domínguez, R. C. Palomo, and V. H. A. López. 2004. Influence of zilpaterol hydrochloride on growth and carcass characteristics of pelibuey lambs. *J. Appl. Anim. Res.* 26: 13-16.
- Salinas, C. J., M. M. Dominguez, R. M. Diaz, P. B. Cruz, M. F. G. Montaña and C. A. Arzola. 2006. Effect of duration of zilpaterol hydrochloride treatment on carcass characteristics and weight gain un grazing pelibuey lambs. *J. Appl. Anim. Res.* Vol. 29 No.1.
- Schiavetta, A. M., M. F. Millar, D. K. Lunt, S. K. Davis, and Smith, S. B. 1990. Adipose tissue cellularity and muscle growth in young steers fed the beta-adrenergic agonist clenbuterol for 50 days and after 78 days of withdrawal. *J. Anim. Sci.* 68(11):3614-23.
- Schoroeder, A. L., D. M. Polser, S. B. Laudert, and G. J. Vogel. 2003. The effect of Optaflexx on growth performance and carcass traits of steers and heifers. Optaflexx™ Exchange No. 1-3.
- Shackelford, S. D., J. W. Edwards, E. K. Smarr and J. W. Savell. 1992. Retail cut yields of rambouillet wether lambs fed the B-Adrenergic Agonist L 644, 969. *J. Anim. Sci.* 70: 161-168.
- Shappell, N. W., V. J. Feil, D. J. Smith, G. L. Larsen, and D. C. McFarland. 2000. Response of C₂C₁₂ mouse and turkey skeletal muscle cells to the beta-adrenergic agonist ractopamine. *J. Anim. Sci.* 78:699-708.
- Shelver, W. L., and D. J. Smith. 2006. Tissue residues and urinary excretion of zilpaterol in sheep treated for 10-days with dietary zilpaterol. *J. Agric. Food Chem.* 54:4155-4161.
- Smith, S. B., D. K. Garcia, S. K. Davis, and D. B. Anderson. 1989. Elevation of a specific mRNA in longissimus muscle of steers fed ractopamine. *J. Anim. Sci.* 67:3495-3502.
- Smith, S. B., S. K. Davis, J. J. Wilson, R. T. Stone, F. Y. Wu, D. K. Garcia, D. K. Lunt, and A. M. Schiavetta. 1995. Bovine fast-twitch myosin light chain 1: cloning and mRNA amount in muscle of cattle treated whit clenbuterol. *Am. J. Physiol.* 268:E858-865.

- Sumano, L. H., C. L. Ocampo, y O. L. Gutiérrez. 2002. Clenbuterol y otros β -agonistas, ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? *Vet. Méx.*, 33:137-159.
- Vasconcelos J. T., R. J. Rathmann, R. R. Reuter J. Leibovich, J. P. McMeniman, K. E. Hales, T. L. Covey, L. F. Miller, W. T. Nichols and M. L. Galyean. 2008. Effects of duration of zilpaterol hydrochloride feeding and days on the finishing diet on feedlot cattle performance and carcass traits. *J. Anim. Sci.*86: 2005-2015.
- Wheeler, T. L., and M. Koochmaraie. 1992. Effects of the beta-adrenergic agonist L-644,969 on muscle protein turnover, endogenous proteinase activities and meat tenderness in steers. *J. Anim. Sci.* 70:3035-3043.

EXPERIMENTO I

Running Head: Zilpaterol pre-harvest withdrawal in feedlot

Effects of pre-harvest withdrawal period on response of feedlot heifers to zilpaterol hydrochloride supplementation: growth performance and carcass characteristics¹

Robles-Estrada, J.C.* , A.A. Arrizon,* , A. Barreras* , J. F. Calderon* , F. Figueroa-Saavedra* , N. Torrentera* , A. Plascencia*² , and R. A. Zinn[†]

*Universidad Autónoma de Baja California, México 21100

[†]Department of Animal Science, University of California, Davis 95616

Publicado en: Journal of Animal Science 87 (2009) 1759-1763.

¹ The authors thank Baraquiel Fimbres-Preciado for support during the study, from the commercial feedlot Engorda La Casita and from Rastro TIF No. 301 in Mexicali, Baja California, México.

² Corresponding author: aplas_99@yahoo.com

ABSTRACT: Sixty-four crossbred heifers (451 ± 23 kg) were used in a 42-d feeding trial (4 pens per treatment in a randomized complete block design) to evaluate the influence of pre-harvest zilpaterol hydrochloride (β -agonist) withdrawal period on growth performance and carcass characteristics. Heifers were fed a diet based on steam-flaked corn (2.13 Mcal NE_m/kg). Treatments were: 1) control, no zilpaterol supplementation; 2) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn from the diet 3 d pre-slaughter (**ZIL-3**); 3) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 6 d pre-slaughter (**ZIL-6**), and 4) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 12 d pre-slaughter (**ZIL-12**). Zilpaterol was supplemented at the rate of 0.15 mg/kg BW daily. Intake of DM averaged 9.2 ± 0.26 kg/d and was not affected ($P \geq 0.36$) by treatment. Compared with control heifers, ZIL-3 increased ($P < 0.01$) carcass-adjusted ADG (59%), G:F (57%), apparent dietary NE_m (31%), and decreased observed/expected DMI (25%). Treatment with **ZIL-3** did not affect ($P \geq 0.20$) marbling score, fat thickness, or retail yield, but, compared with control group, increased HCW (3.6%, $P = 0.03$), carcass dressing percentage (3.2%, $P = 0.02$), LM area (6.3%, $P = 0.05$), and reduced trimmed fat (31%, $P = 0.03$). Prolonging the period of zilpaterol withdrawal pre-harvest tended to decrease carcass adjusted ADG (linear, $P = 0.11$), G:F (linear, $P = 0.08$), apparent dietary NE_m (linear, $P = 0.11$) and carcass dressing percentage (linear, $P = 0.11$). We conclude that growth performance and carcass yield responses to zilpaterol supplementation are negatively impacted by prolonging the period of zilpaterol withdrawal beyond 3 d (the required minimum withdrawal period according to label). Drug withdrawal period may be a relevant factor

in explaining variation in performance response to zilpaterol supplementation in commercial feedlots.

KEY WORDS: β -agonist, beef cattle, carcass characteristics, performance, zilpaterol

INTRODUCTION

Zilpaterol hydrochloride (Zilmax, Intervet, Inc., Millsboro, DE) is a type 2 β -agonist approved (FDA, 2006) for continuous feeding to feedlot cattle at the rate of 7.5 to 8.3 mg/kg DM during the final 20 to 40 d followed by a 3-d withdrawal period before harvest. Under these conditions, zilpaterol markedly enhances ADG, G:F, HCW, dressing percentage, LM area, and boneless closely trimmed carcass yield (Avenidaño-Reyes et al., 2006; Montgomery et al., 2008; Plascencia et al., 2008). However, due to its rapid elimination (> 95% in 72 h), mainly via the urine (Shelver and Smith, 2006), a withdrawal period of greater than 72 h may result in reversal of growth performance and carcass yield gains. Because it is not always feasible to harvest an entire lot of cattle on the same date, it is expected that withdrawal of zilpaterol from the feed for periods in excess of 3 d might frequently occur.

The purpose of this study was to evaluate the risk of extending (for 3 or 9 additional days) the pre-harvest withdrawal period on growth performance and carcass characteristics of feedlot heifers supplemented with zilpaterol.

MATERIALS AND METHODS

All procedures involving live animals were conducted within the guidelines of approved local official techniques of animal care (NOM-051-ZOO-1995: Humanitarian care of animals during mobilization of animals; NOM-024-ZOO-1995: Animal health

stipulations and characteristics during transportation of animals; NOM-EM-015-ZOO-2002: Technical stipulations for the control use of beta agonists in animals, and NOM-033-ZOO-1995, Humanitarian care and animal protection during slaughter process).

Sixty-four crossbred heifers (approximately 20% Zebú breed with the remainder represented by approximately 20% Hereford, 10% Angus, and 50% Charolais breeds) with an average initial weight of 451 ± 23 kg were used to evaluate the influence of zilpaterol withdrawal period (3, 6, or 12 d) on growth performance and carcass characteristics. The trial was conducted at the Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias of the Universidad Autónoma, Baja California, México. On arrival into the feedlot (98 d before starting the trial), heifers were vaccinated for bovine rhinotracheitis-parainfluenza₃ and *Mannheimia haemolytica* (Pirámide 4 + Presponse SQ, Fort Dodge Animal Health, México), clostridials (*chauvoei*, *septicum*, *perfringes* type B, C, and D, *novyi*, and *sordellii*; Ultrabac-7, Pfizer Animal Health, México), and treated for parasites (Bimectin, Vetoquinol, México). Heifers were injected with 500,000 IU vitamin A (Synt-ADE, Fort Dodge, Animal Health, México) and implanted with Synovex H (Fort Dodge, Animal Health, México). Twenty-eight days before the start of the trial, heifers were weighed, reimplanted with Synovex plus, (Fort Dodge Animal Health, México), and sorted by weight into 4 uniform weight blocks (4 heifers per pen, 4 pens per block). Pens were 50 m², with 21 m² overhead shade, automatic waterers, and 3.7-m fence-line feed bunks. Cattle were individually weighed at 0600 h, both at the start of the feeding trial and before shipment to a commercial abattoir (Rastro TIF 301) located 14 km from the feedlot facility. Treatments were: 1) control, no zilpaterol supplementation; 2) zilpaterol

supplementation for 30 d, drug withdrawn from the diet 3 d pre-harvest (**ZIL-3**); 3) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 6 d pre-harvest (**ZIL-6**), and 4) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 12 d pre-harvest (**ZIL-12**). Control and ZIL-3 treatments were harvested the same day. The ZIL-6 and ZIL-12 treatments were harvested 3 and 9 d later, respectively. Zilpaterol was supplemented to provide approximately 0.15 mg/kg BW daily, based on expected average BW of heifers during the 30-d supplementation period. Treatments were randomly assigned to pens within weight blocks. Heifers were fed twice daily at 0800 and 1400 h. Heifer were fed 3 kg (as fed basis) of their respective diets in the morning feeding, and the remainder in the afternoon feeding. The total daily dose of zilpaterol was provided in the morning feeding as part of the complete mixed diet. This was accomplished by combining zilpaterol with the basal diet (Table 1) in a 90-kg capacity paddle mixer (Leon Weill mixer, model 30910-7, Coyoacán, Mexico) and mixing for 10 min before feeding to cattle. Feed bunks of each pen were evaluated visually between 0740 to 0750 h each morning before feeding to determine the quantity of feed remaining from the previous day. Daily feed allotments to each pen were adjusted to allow minimal (< 5%) feed accumulation in the feed bunk. Adjustments (increase or decrease) in daily feed delivery were allotted to the afternoon feeding. Feed samples were collected daily for DM analysis (forced-air oven; AOAC, 1984).

The HCW were obtained from all heifers at time of harvest. After carcasses were chilled for 48 h the following measurements were obtained: 1) LM area, taken by direct grid reading of the muscle at 12th rib; 2) subcutaneous fat over the LM at the 12th rib; 3) KPH as a percentage of HCW; and 4) marbling score (USDA, 1965).

Energy gain (**EG**, Mcal/d) was calculated by the equation: $EG = ADG^{1.097} \times 0.0608$
 $BW^{0.75}$ (NRC, 1984). Maintenance energy (**EM**) was calculated by the equation: $EM =$
 $0.077 BW^{0.75}$ (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: $(-b - \sqrt{b^2 - 4ac})/2c$; where $a = -0.41EM$, $b = 0.877EM + 0.41DMI +$
 EG , and $c = -0.877DMI$, and $NE_g = 0.877NE_m - 0.41$ (Zinn and Shen, 1998). For
calculating heifer performance, initial and final full BW were reduced 4% to account for
digestive tract fill. Final weight was adjusted for HCW by dividing individual HCW by the
average dressing percentage for all heifers. Pens were used as experimental units. Pen
performance and carcass data were analyzed as a randomized complete block design
using the MIXED procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The effects of zilpaterol
withdrawal were tested for linearity and curvilinearity by means of orthogonal
polynomials. Coefficients of polynomials for unequally spaced treatments were generated
using ORPOL matrix function of the IML procedure of SAS. In addition, a contrast was
used for comparing between ZIL-3 and control.

RESULTS AND DISCUSSION

Observed ADG, DMI, and G:F during the 28-d pre-trial period was similar ($P \geq$
0.20) among pre-assigned treatment groups, averaging 1.32 kg/d, 8.83 kg/d, and
0.149, respectively. Zilpaterol supplementation effects on growth performance and
carcass characteristics are shown in Tables 2 and 3. Daily zilpaterol intake averaged
 0.149 ± 0.001 , 0.147 ± 0.002 , and 0.147 ± 0.002 mg/kg BW daily for ZIL-3, ZIL-6, AND
ZIL-12, respectively, in close agreement with the targeted 0.15 mg/kg BW daily. Intake of

DM averaged 9.2 ± 0.26 kg/d and was not affected ($P \geq 0.36$) by treatment.

Compared with control, ZIL-3 increased carcass-adjusted ($P < 0.01$) ADG (59%) and G:F (57%). The influence of zilpaterol supplementation on performance responses of feedlot heifers has not been previously reported. However, improved ADG and G:F with no effect on DMI has been a consistent response to zilpaterol supplementation of feedlot steers (Avendaño-Reyes et al., 2006; Plascencia et al., 2008, Vasconcelos et al., 2008) with the magnitude of ADG response to zilpaterol supplementation ranging from 12.5 (Vasconcelos et al., 2008) to 35.4% (Avendaño-Reyes et al., 2006). The basis for differences in the magnitude of performance response with zilpaterol supplementation is not certain, but may reflect differences in final BW and mature muscle mass.

Observed performance of control heifers was consistent with DMI and tabular estimates (NRC, 1996) of diet energy density (NE intake of control heifers was 99% of expected based on observed BW and ADG; Table 2). In contrast, zilpaterol supplementation increased apparent dietary NE_m (31%, $P < 0.01$), decreasing (25%, $P < 0.01$) observed/expected DMI. This result with feedlot heifers is consistent with previous studies involving feedlot steers (Avendaño-Reyes et al., 2006; Plascencia et al., 2008; Montgomery et al., 2008; Vasconcelos et al., 2008), wherein zilpaterol supplementation enhanced apparent dietary NE_m by 22 to 38% (average = 28%). The large apparent increase in energy retention per unit DMI (25% reduction in observed vs. expected DMI) is a reflection of the direct action of supplemental β -agonist on net protein retention, and hence, lean tissue growth (Moody et al., 2000; Murdoch et al., 2005; Johnson and Chung, 2007). Live animal conformational

changes (swelling, particularly over the loins and round) is observable visually within a few days of zilpaterol introduction into the diet. It is likely that changes in composition of tissue gain in response to zilpaterol (more lean tissue and less fat) lead to less energy being retained by the animal than would be calculated from NRC (1996) equations.

Compared to control, ZIL-3 increased HCW (3.6%, $P = 0.03$), carcass dressing percentage (3.2%, $P = 0.02$), LM area (6.3%, $P = 0.05$), and reduced trimmed fat (31%, $P = 0.03$). Likewise, Avendaño-Reyes et al. (2006) and Vasconcelos et al. (2008) also reported increased carcass dressing percent and LM area due to zilpaterol supplementation of feedlot steers. Increased carcass dressing percentage explained 60% of the increase in carcass-adjusted ADG. Compared to control, ZIL-3 increased HCW by 11 kg ($P = 0.03$) and lean yield (boneless closely trimmed retail yield) by 13.7 kg ($P < 0.01$). However, the initial LW of the cattle was 7.4 kg less for Zil-3 than for control. One could calculate that if initial LW had been identical, then the difference in HCW between control and Zil-3 might have been an additional 4.7 kg (7.4 kg BW x 0.64) heavier, for a total increase of 15.8 kg in HCW (5.1% increase). The magnitude of the relative increase in HCW due to zilpaterol supplementation is consistent with the average of 4.9% reported by previous studies involving feedlot steers (7.5%, Avendano-Reyes et al., 2006; 3.5%, Montgomery et al., 2008; 3.9%, Plascencia et al., 2008; 4.5%, Vasconcelos et al., 2008). Zilpaterol supplementation did not affect marbling score ($P \geq 0.49$), fat thickness ($P \geq 0.17$), or bone yield ($P \geq 0.25$).

Prolonging the period of zilpaterol withdrawal pre-harvest (Table 4 and 5) tended to decrease carcass-adjusted ADG (linear, $P = 0.11$), G:F (linear, $P = 0.08$), apparent dietary NE (linear, $P = 0.11$), carcass dressing percentage (linear, $P = 0.11$), and percentage lean yield (linear, $P = 0.11$). Due to differences in days on feed with increasing period of zilpaterol withdrawal (3 to 9 additional days), growth performance and carcass characteristic measures are confounded with effects of days on feed and compositional endpoints.

The effectiveness of zilpaterol for promoting growth performance depends, in part, on rate of absorption from the digestive tract and its half-life in tissues and body fluids (Murdoch et al., 2005). Other factors affecting efficacy include degree of endogenous transformation and excretion rate (Smith, 1998). β -agonists having hydroxylated aromatic rings (like zilpaterol) are metabolized by conjugation and have relatively short plasma half-lives (Sumano et al., 2002). Shelver and Smith (2006) observed that, in sheep supplemented with zilpaterol (0.15 mg/ kg BW daily), zilpaterol levels climbed rapidly, plateauing in about 5 d. Following withdrawal from the diet, tissue levels of zilpaterol dropped rapidly (muscle, liver, and kidney levels decreased by 95% after 3 d withdrawal). During the first 3 d of the withdrawal period, zilpaterol elimination followed a first-order excretion pattern having an average elimination half-life of 12.7 ± 4.0 h.

Zilpaterol supplementation during the late finishing phase markedly enhances growth performance and carcass yield of feedlot heifers. Nevertheless, the magnitude of the responses decreases as the zilpaterol pre-harvest withdrawal period is

prolonged. Drug withdrawal period may be a relevant factor in explaining variation in performance response to zilpaterol supplementation in commercial feedlots.

LITERATURE CITED

AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Assoc. Off. Anal. Chem. Arlington, VA.

Avendaño-Reyes, L., V. Torres-Rodríguez, F. J. Meraz-Murillo, C. Pérez-Linares, F. Figueroa-Saavedra, and P. H. Robinson. 2006. Effects of two β -adrenergic agonists on finishing performance, carcass characteristics, and meat quality of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84:3259-3265.

FDA. 2006. Freedom of information summary original new animal drug application. NADA 141-258. Zilmax (zilpaterol hydrochloride) Type A medicated article for cattle fed in confinement for slaughter. <http://www.fda.gov/cvm/FOI/141-258o08102006.pdf>. Accessed Feb. 4, 2008.

Garrett, W. 1971. Energetic efficiency of beef and dairy steers. *J. Anim. Sci.* 31:452-456.

Johnson, B. J., and K. Y. Chung. 2007. Alteration in the physiology of growth cattle with growth-enhancing compounds. Pages 321-332 In: *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 23. L. C. Hollis and K. C. Olson, ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA.

Montgomery, J. L., C. R. Krehbiel, J. J. Cranston, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, R. S. Swingle, and T. H. Montgomery. 2008. Effects of dietary zilpaterol hydrochloride on feedlot performance and carcass

- characteristics of beef steers fed with and without monensin and tylosin. *J. Anim. Sci.* doi 10.2527/jas.2008-1169
- Moody, D. E., D. L. Hancock, and D. B. Anderson. 2000. Phenethanolamine repartitioning agents. Pages 65-96 in *Farm Animal Nutrition*. J. P. F. D'Mello, ed. CABI Publishing, New York, NY.
- Murdoch, G. K., E. K. Okine, and R. J. Christopherson. 2005. Metabolic modifiers in animal nutrition: potential benefits and risks. Pages 135-178 in *Biology of Nutrition in Growing Animals*. Vol. 4. R. Mosenthin, J. Zentek, and T. Zebrowska, ed. Elsevier. Philadelphia, PA.
- NRC. 1984. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 6th Rev. Ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Normas Oficiales Mexicanas. Diario Oficial de la Federación. <http://dof.gob.mx/> accessed Jan. 23, 2008.
- Plascencia, A., N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2008. Influence of the B-agonist, zilpaterol, on growth performance and carcass characteristics. *J. Anim. Vet. Adv.* 7:1257-1260.
- Shelver, W. L., and D. J. Smith. 2006. Tissue residues and urinary excretion of zilpaterol in sheep treated for 10-days with dietary zilpaterol. *J. Agric. Food Chem.* 54:4155-4161.
- Smith, D. J. 1998. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β -adrenergic agonists in livestock. *J. Anim. Sci.* 76:173-194.

- Sumano, L. H., C. L. Ocampo, and O. L. Gutierrez . 2002. Clenbuterol and other β -agonist, are they an option for meat production or a threat for public health?. Vet. Mex. 33:137-159. (In Spanish).
- USDA. 1965. Official United States Standards for Grades of Carcass Beef. C&MS, SRA 99.
- Vasconcelos, J. T., R. J. Rathmann, R. R. Reuter, J. Leibovich, J. P. McMeniman, K. E. Hales, T. L. Covey, M. F. Miller, W. T. Nichols, and M. L. Galyean. 2008. Effects of duration of zilpaterol hydrochloride feeding and days on the finishing diet on feedlot cattle performance and carcass traits. J. Anim. Sci. 86:2005–2015.
- 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 feedlot calves. J. Anim. Sci. 76:1280-1289.

Table 1. Composition of experimental diets fed to heifers

Item	Control	Zilpaterol
Ingredient, % of DM		
Sudangrass hay	9.50	9.50
Ground rice straw	6.00	6.00
Steam-flaked corn	56.00	56.00
Yellow grease	3.50	3.50
Molasses	10.00	10.00
Cottonseed meal	6.00	6.00
Corn fried mixture ¹	6.00	6.00
Protein-mineral supplement ²	3.0	3.0
Zilmax ³	-	+
Nutrient composition (DM basis) ⁴		
NE _m , Mcal/kg	2.13	2.13
NE _g , Mcal/kg	1.45	1.45
CP, %	12.8	12.8
Ether extract, %	7.3	7.3
Calcium, %	0.90	0.90
Phosphorus, %	0.35	0.35

¹ Nutrient composition (by analysis): 1.18% N, 6.4% ADF, 19.0% ether extract, 62.6% nitrogen-free extract, and 4.6% ash.

² Contained 50% CP and 20% Ca.

³ Fed to provide 0.15 mg of zilpaterol hydrochloride/kg of BW daily (Zilmax, Intervet, México City, México).

⁴ Based on tabular values for individual feed ingredients (NRC, 1996) with the exception of corn fried mixture, which was assigned NE_m and NE_g values of 2.70 and 1.95, respectively, based on nutrient composition (Zinn and Plascencia, 1993).

Table 2. Treatments effects on growth performance responses in feedlot heifers

Item	Treatment		SEM	<i>P</i> -value
	Control	Zil-3 ¹		
Days on test	33	33		
Pen replicates	4	4		
BW, ² kg				
Initial	454.9	447.5	3.6	0.28
Final	497.4	499.1	4.0	0.77
ADG, ³ kg/d	1.15	1.83	0.11	< 0.01
DMI, kg/d	8.98	9.10	0.26	0.36
G:F	0.129	0.202	0.01	< 0.01
Observed diet energy, Mcal/kg				
NE _m	2.06	2.70	0.12	< 0.01
NE _g	1.40	1.96	0.11	< 0.01
Observed/expected diet NE ⁴				
NE _m	0.97	1.27	0.06	< 0.01
NE _g	0.96	1.35	0.07	< 0.01
Observed/expected DMI	0.99	0.74	0.10	< 0.01

¹ Zilpaterol fed daily for last 30 d of fattening at 0.15 mg of zilpaterol hydrochloride/kg of BW daily; Zilpaterol was withdrawn 3 d before harvest.

² Initial and final weight reduced 4% to account for fill.

³ Computed by using final BW = HCW/0.63, where 0.63 is the dressing percent average.

⁴ Expected diet NE based on tabular values for individual dietary ingredients (NRC, 1996).

Table 3. Treatments effects on carcass characteristics in feedlot heifers

Item	Treatment		SEM	P-value
	Control	Zil-3 ¹		
HCW, kg	309.0	320.1	2.94	0.03
Chilled carcass wt, kg	304.8	315.9	3.04	0.03
Dressing percentage	62.2	64.2	0.45	0.02
LM area, cm ²	93.5	99.4	1.83	0.05
Fat thickness, cm	0.85	0.64	0.08	0.17
KPH, %	2.41	2.63	0.13	0.26
Marbling score ²	3.56	3.28	0.27	0.49
Bone, %	4.34	4.45	0.14	0.25
Trimmed fat, %	10.22	7.06	0.87	0.03
Lean yield, % ³	65.27	67.30	0.80	0.11

¹ Zilpaterol fed daily for last 30 d of fattening at 0.15 mg of zilpaterol hydrochloride/kg of BW daily; zilpaterol was withdrawn 3 d before harvest.

² Coded: minimum slight = 3, minimum small = 4, etc.

³ Yield of boneless closely trimmed lean yield.

Table 4. Treatments effects on growth performance responses in feedlot heifers

Item	Days of drug withdrawal ¹			SEM	P-value	
	Zil-3	Zil-6	Zil-12		Linear	Quadratic
Days on test	33	36	42			
Pen replicates	4	4	4			
BW, ² kg						
Initial	447.5	450.2	452.3	3.6	0.37	0.82
Final	499.1	505.8	517.1	4.0	0.02	0.89
ADG, ³ kg/d	1.83	1.71	1.55	0.11	0.11	0.82
DMI, kg/d	9.10	9.32	9.37	0.26	0.51	0.69
G:F	0.202	0.185	0.165	0.01	0.08	0.77
Observed diet energy, Mcal/kg						
NE _m	2.70	2.55	2.39	0.12	0.11	0.76
NE _g	1.96	1.82	1.65	0.11	0.11	0.76
Observed/expected diet NE ⁴						
NE _m	1.27	1.20	1.13	0.06	0.11	0.77
NE _g	1.35	1.26	1.16	0.07	0.10	0.77
Observed/expected DMI	0.74	0.79	0.85	0.10	0.17	0.85

¹ Zilpaterol fed daily for last 30 d of fattening at 0.15 mg of zilpaterol hydrochloride/kg of BW daily; the codes of Zil-3, Zil-6, and Zil-12 represent that zilpaterol was withdrawn 3, 6, and 12 d before harvest.

² Initial and final BW reduced 4% to account for fill.

³ Computed by using final BW = HCW/0.63, where 0.63 is the dressing percent average.

⁴ Expected diet NE based on tabular values for individual dietary ingredients (NRC, 1996).

Table 5. Treatments effects on carcass characteristics in feedlot heifers

Item	Days of drug withdrawal ¹			SEM	<i>P</i> -value	
	Zil-3	Zil-6	Zil-12		Linear	Quadratic
HCW, kg	320.1	322.4	326.2	2.94	0.18	0.94
Chilled carcass wt, kg	315.9	319.3	321.5	3.04	0.24	0.70
Dressing percentage	64.2	63.8	63.1	0.45	0.11	0.92
LM area, cm ²	99.4	94.5	98.2	1.83	0.94	0.08
Fat thickness, cm	0.64	0.80	0.75	0.08	0.53	0.29
KPH, %	2.63	2.63	2.81	0.13	0.29	0.71
Marbling score ²	3.28	3.38	3.28	0.27	0.96	0.79
Bone, %	4.45	4.37	4.43	0.14	0.98	0.65
Trimmed fat, %	7.06	8.38	10.16	0.87	0.03	0.79
Lean yield, % ³	67.30	65.90	65.18	0.80	0.11	0.51

¹ Zilpaterol fed daily for last 30 d of fattening at 0.15 mg of zilpaterol hydrochloride/kg of BW daily; the codes of Zil-3, Zil-6, and Zil-12 represent that zilpaterol was withdrawn 3, 6, and 12 d before harvest.

² Coded: minimum slight = 3, minimum small = 4, etc.

³ Yield of boneless closely trimmed lean yield.

EXPERIMENTO II

Running Header: Zilpaterol level and performance and carcass characteristics in drylot lambs

Short communication

Influence of level of zilpaterol chlorhydrate supplementation on growth performance and carcass characteristics of feedlot lambs

A. Estrada-Angulo^a, A. Barreras-Serrano^b, G. Contreras^a, J.F. Obregon^a, J.C. Robles-Estrada^b, A. Plascencia^{b3}, and R.A. Zinn^c

^a*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán 1084, Sinaloa, México*

^b*Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali 21100,*

Baja California, México

^c*Department of Animal Science, University of California, Davis 95616, USA*

Publicado en: Journal of Small Ruminant Research 80 (2008) 107-110.

³Corresponding author at: Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Av. José María Aguayo #1429. Fracc. Vistahermosa CP 21240, Mexicali, B.C. México.

E-mail address: aplas_99@yahoo.com. (A. Plascencia).

Abstract

Forty-eight Pelibuey × Katahdin (38.8 ± 0.67 Kg) crossbred male lambs were used in a 32-d feeding trial (four pens per treatment in a randomized complete block design), to evaluate the influence of zilpaterol (β_2 -agonist) supplementation level on growth performance and carcass characteristics. Lambs were fed a dry-rolled corn-based finishing diet (3.04 Mcal/kg of ME) supplemented with 0, 0.15, 0.20, or 0.25 mg/kg LW· d⁻¹ zilpaterol (as zilpaterol chlorhydrate, Zilmax®, Intervet México, México City). DM intake averaged 1.099 ± 0.042 kg/d and was not affected ($p = 0.40$) by treatments. Compared with control lambs, zilpaterol supplementation increased gain efficiency (15.8%, $p < 0.03$), apparent energy retention per unit DMI (10.9%, $p = 0.03$), and tended to increased daily gain (16%, $p < 0.07$) and total gain (17.7%, $p < 0.08$). Zilpaterol supplementation did not affect ($p = 0.20$) carcass weight, LM area, or fat thickness, but increased (2.3%, $p = 0.04$) carcass dressing percentage and reduced (36%, $p < 0.01$) kidney-pelvic fat. Increasing level of zilpaterol supplementation increased total weight gain (linear component, $p < 0.05$), G:F (linear component, $p < 0.01$), and dressing percentage (linear component, $p < 0.02$), and decreased (linear component, $p < 0.01$) kidney-pelvic fat. We conclude that zilpaterol supplementation enhances growth performance and dressing percentage in lambs in a manner comparable to that of cattle (greater muscle accretion, reduced body fat). Responses to zilpaterol was optimal when supplemented at 0.20 mg of zilpaterol/kg LW· d⁻¹.

KEY WORDS: β -agonist; carcass characteristics; lambs; performance; zilpaterol

1. Introduction

Zilpaterol chlorhydrate (Zilmax®, Intervet México, México City), an orally active type 2 β -agonist, is approved for use in feedlot cattle, both in Mexico (NOM-015-ZOO, 2002) and the United States (NADA 141-258; FDA, 2006). Zilpaterol or other similar compounds are specifically forbidden for use in animal products for the European Union (Council of the European Communities, 1986). Feeding zilpaterol improved ADG, gain efficiency, carcass yield grade, hot carcass weight and dressing percentage in feedlot cattle when administered at 60 mg/head· d⁻¹ during the last 30 to 42 d of the feeding period (Avendaño-Reyes et al., 2006; Plascencia et al., 2008). Likewise, β -agonist supplementation has increased ADG, gain efficiency and hot carcass weight in lambs (Beermann et al., 1987; Pringle et al., 1993; Nourozy et al., 2008). However, very little information is presently available regarding the efficacy of zilpaterol supplementation in feedlot lambs. Because the efficacy of β -agonists in promoting growth depends, in part, on level of administration, rate of absorption, and half-life in tissues and body fluids (Murdoch et al., 2006), responses to β -agonist supplementation between species have been inconsistent (Mersmann, 1998).

The objective of this experiment was to evaluate growth performance and carcass yield responses in lambs fed zilpaterol at three levels of supplementation (15, 20, and 25 mg/kg LW· d⁻¹).

2. Materials and methods

This trial was conducted at the Universidad Autónoma de Sinaloa, México, Feedlot Lamb Research Unit. All animal management procedures were conducted within the guidelines of UAS approved techniques for animal use and care.

Sixty Pelibuey x Katahdin lambs (80 d of age) were received at the research facility 40-d before initiation of the trial. Upon arrival, lambs were weighed, treated for endoparasites (Tasasel 5%®, Fort Dodge, Animal Health, México), and injected with 1×10^6 IU vitamin A (Synt-ADE®, Fort Dodge, Animal Health, México). Following a 5-day receiving-evaluation period, 48 lambs (38.8 ± 0.67 Kg) were selected from the original group of sixty lambs for use in the study, based on uniformity of weight and general condition. Lambs were then grouped by weight into four uniform weight groupings of 12 lambs each, and assigned within weight groupings to 4-pen blocks (three lambs per pen). The 16 pens used in the study were 6 m² with overhead shade, automatic waterers and 1 m fence-line feed bunks. During a 35-day adaptation period all lambs received the basal experimental diet, containing (DM basis, g/kg): corn cobs, 97; distiller dried grain, 209; dry rolled corn, 543; tallow, 28; cane molasses, 102; urea, 8.5; mineral supplement 12.5. Calculated composition of the basal diet (NRC, 1985, DM basis) was as follows: CP, 137 g/kg; ME, 3.04 Mcal/kg, ether extract, 74 g/kg, calcium, 68 g/kg, and phosphorus, 39 g/kg. The 32-day experimental period was initiated on November 15, 2007. Dietary treatments consisted of the same basal diet that was fed during the adaptation period supplemented with 0 (**NZ**), 0.15 (**Z15**), 0.20 (**Z20**), or 0.25 (**Z25**) mg/kg LW· d⁻¹ zilpaterol (as zilpaterol chlorhydrate, Zilmax®, Intervet México, México City). The four dietary treatments were randomly assigned within 4-

pen blocks in a randomized complete block design. Total daily dosage of zilpaterol was top-dressed on feed at the time of the morning feeding. Lambs were fed twice daily at 0800 and 1400 h in a 30:70 proportion (as feed basis). Feed bunks were evaluated visually between 7:40 to 7:50 each morning (before feeding) to determine the quantity of feed remaining from the previous day. Daily feed allotment to each pen was adjusted to allow for minimal (< 5%) feed accumulation. Adjustments (increase or decrease) in daily feed delivery were allotted to the afternoon feeding. Feed samples were collected daily for DM analysis (forced-air oven; AOAC, 1984). Individual full weights were obtained at 0700 h upon initiation and termination of the 32-d experimental period. Initial and final weights were reduced (pencil shrink) 4% to account for digestive tract fill (Cannas et. al., 2004). Zilpaterol was withdrawn on day 30 of the experimental period (48 h before harvest). Average daily minimum and maximum temperatures during the course of the study were 14.9 and 29.9°C, respectively. Average daily humidity was 48%.

Hot carcass weights (HCW) were obtained from all lambs at time of harvest. After carcasses were chilled for 48 h the following measurements were obtained: 1) fat thickness perpendicular to the longissimus dorsi, 2) LM area, 3) kidney-pelvic fat was removed from the hind saddle and weighed and reported as a percentage of carcass weight (USDA, 1982). Final live weight was adjusted for carcass weight (carcass adjusted final weight) by dividing carcass weight by the decimal fraction of the average dressing percentage (0.596). Carcass-adjusted final LW was used in subsequent calculation of ADG and G:F.

The trial was analysed as a randomized complete block design using the MIXED

procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), with pens as the experimental units. The hypothesis of equal mean responses among treatments was tested using Dunnett's procedure. Treatment differences were considered to be significant when $p \leq 0.05$. The quantitative trend relationship between the zilpaterol supplementation treatments was investigated using polynomial response functions. To determine the better order polynomial equation, equally spaced-orthogonal polynomial contrasts were used. (Kuehl, 2000). Treatment differences were considered a trend at $p \leq 0.05$. At least an 80% power of detecting the treatments effect, based on tests with significance level 0.05 was considered in this experiment.

3. Results

Daily zilpaterol intake averaged 0.148 ± 0.001 , 0.196 ± 0.002 , and 0.247 ± 0.002 mg · kg LW⁻¹ · d⁻¹, for Z15, Z20, and Z25, respectively, in close agreement with projected (0.15, 0.20 and 0.25 mg · kg LW⁻¹ · d⁻¹). DM intake averaged 1.099 ± 0.042 kg/d, and was not affected ($p = 0.40$) by treatments. Compared with control lambs, zilpaterol increased G:F (15.8%, $p < 0.03$) and apparent energy retention per unit DMI (10.9%, $p = 0.03$), and tended to increase ADG (16%, $p < 0.07$) and total LW gain (17.7%, $p < 0.08$). Zilpaterol supplementation did not affect ($p = 0.20$) carcass weight, LM area, or fat thickness, but increased carcass dressing percentage (2.3%, $p = 0.04$) and reduced (36%, $p < 0.01$) kidney-pelvic fat. Total LW gain (linear component, $p < 0.05$), G:F (linear component, $p < 0.01$), apparent energy retention per unit of DMI (linear component, $p < 0.01$), and dressing percentage (linear component, $p < 0.02$) increased with increasing level of zilpaterol supplementation. In contrast, kidney-pelvic fat decreased (linear component, $p < 0.01$) with increasing level of zilpaterol

supplementation. There was a quadratic component (quadratic, $p < 0.04$) to the ADG response to increasing level of zilpaterol supplementation (optimized at 0.20 mg/kg LW·d⁻¹).

4. Discussion

Enhanced ADG and G:F with no effect on DMI has been a consistent response with zilpaterol supplementation in feedlot cattle (Avendaño-Reyes et al., 2006; Plascencia et al., 2008), and in feedlot lambs supplemented with the β -agonists cimaterol (Beermann et al., 1987) or clenbuterol (Baker et al et al., 1984). Assuming that, DMI intake is related to energy requirements and dietary NE_m, expected DMI can be estimate from average ADG and SBW according to the following equation: DMI, kg/d = (EM/NE_m) + (EG/NE_g), where EM (energy required for maintenance, Mcal/d) = 0.056*SBW^{0.75} (NRC, 1985), EG (energy gain, Mcal/d) = 276*ADG* SBW^{0.75} (NRC, 1985), and NE_m and NE_g are 2.07 and 1.41 Mcal/kg, respectively (derived from tabular values based on ingredient composition of the experimental diet; NRC, 1985). The coefficient 276 was estimated assuming a mature weight for pelibuey x katahdin male lambs of 113 kg (Canton, 2007). Observed DMI of the control group (not supplemented with zilpaterol) was in close agreement with expected (observed:expected ratio = 0.98; Table 2), supporting the practicality of the prediction equations proposed by the NRC (1985) for estimation of DMI in relation of LW and ADG in feedlot lambs. Compared with control lambs, zilpaterol supplementation decreased (10.9%, $p = 0.03$) observed:expected DMI ratio. This apparent increase in efficiency of energy retention per unit DMI is a reflection of the direct action of

supplemental β -agonist on net protein retention, and hence, lean tissue growth (Johnson and Chung, 2007).

Presently, very little has been published regarding the effects of zilpaterol on growth performance of feedlot lambs. Salinas-Chavira et al. (2004) observed increased ($p < 0.05$) DMI and ADG with zilpaterol supplementation in Pelibuey lambs. Whereas, Felix et al. (2005) did not observe an effect of zilpaterol supplementation on growth performance of Pelibuey lambs. The basis for inconsistencies in lamb growth performance responses to β -agonist supplementation is not certain. Baker et al. (1984) conducted a series of three experiments evaluating clenbuterol. In their first and second trial clenbuterol supplementation did not affect ADG, whereas in their third trial clenbuterol supplementation increased ADG and G:F by 24 and 19%, respectively. Proposed (Mersmann, 1998; Moody et al., 2000) causes for variation in growth performance response to β -agonist supplementation include: species, sex, age, genetics, diet, and dosage level consumed.

Increased carcass weight and dressing percentage have been a consistent response to zilpaterol supplementation in feedlot cattle (Plascencia et al., 2008). However, as mentioned above with respect to growth performance, the effect of β -agonist supplementation on carcass characteristics of feedlot lambs has been less consistent. In some cases (Koochmaraie et al., 1991; Shackelford et al., 1992), β -agonist supplementation did not affect in carcass weight or dressing percentage. Whereas in other studies (Pringle et al., 1993), β -agonist supplementation increased carcass weight and dressing percentage. Koochmaraie and Shackelford (1991) observed increased dressing percentage and decreased kidney-pelvic fat in lambs

supplemented with β -agonist.

As expected, growth performance and carcass yield responses to β -agonist supplementation of feedlot cattle (Abney et al., 2007) and lambs (Moody et al., 2000) is dependent on dosage level. Very little has been reported that specifically relates to optimal dosage level of the β -agonist zilpaterol in feedlot lambs. Salinas-Chavira et al. (2004) evaluated the effects of zilpaterol supplementation in feedlot lambs at dosage levels of 4.35 and 6.0 mg/kg of dietary DM. Although, compared with controls, zilpaterol increased ADG and feed efficiency, no differences were detected among two zilpaterol dosage levels. In the present study, corresponding dosage levels were 5.9, 7.9 and 9.9 mg zilpaterol/kg of dietary DM for the Z15, Z20, and Z25 treatment, respectively. Optimal growth performance (daily weight gain and gain efficiency) response was observed at the 7.9 mg/kg DM ($0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg LW}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) level of zilpaterol supplementation, a dosage level 33% greater than the highest level evaluated by Salinas-Chavira et al. (2004).

5. Conclusions

Zilpaterol supplementation of feedlot lambs during the late finishing phase (thirty-two days prior to harvest) enhanced daily weight gain, gain efficiency and carcass dressing percentage, and reduced carcass fat. Optimal growth performance (daily weight gain and gain efficiency) response was observed at $0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg LW}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ level of zilpaterol supplementation.

6. References

AOAC, 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.

Washington, D.C.

Abney, C.S., Vasconcelos, J.T., McMeniman, J.P., Keyser, S.A., Wilson, R.K., Vogel,

G.J., and Galyean, M.E., 2007. Effects of ractopamine hydrochloride on

performance, rate and variation in feed intake, and acid-base balance in

feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 3090-3098.

Avendaño-Reyes, L., Torres-Rodríguez, V., Meraz-Murillo, F.M., Perez-Linares, C.,

Figuroa Saavedra, F., Robinson, P.H., 2006. Effect of two β -adrenergic

agonist on finishing performance, carcass characteristics and meat quality of

feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84, 3259-3265.

Baker, P. K., Dalrymple, L.H., Ingle, D.L., and Ricks, C.A., 1984. Use of a beta-

adrenergic agonist to alter muscle and fat deposition. *J. Anim. Sci.* 59, 1256-

1261.

Beermann, D.H., Butler, W.R., Hogue, D.E., Fishell, V.K., Dalrymple, R.H., Ricks,

C.A., and Scanes, C.G., 1987. Cimaterol induced muscle hypertrophy and

altered endocrine status in lambs. *J. Anim. Sci.* 65, 1514-1524.

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell A.N., and Van Soest, P.J., 2004. A

mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological

values for sheep. *J. Anim. Sci.* 82, 149-169.

Canton, J.G., and Quintal, J.A., 2007. Evaluation of growth and carcass

characteristics of pure Pelibuey sheep and their cross with Dorper and

- Katahdin breeds. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 1), 581. (Abstr.).
- Felix, A., Estrada-Angulo, A., Rios, F.G., Ramos, C.H. and Perez, A.B., 2005. Effect of Zilpaterol clorhidrate on growth performance and carcass traits in finishing sheep. *J. Anim. Sci.* 83 (Suppl 1), 63. (Abstr.).
- Johnson, B.L., and Chung K.Y., 2007. Alteration in the physiology of growth cattle with growth-enhancing compounds. Pages 321-332 in *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 23. L.C. Hollis and K.C. Olson, ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA.
- Koohmaraie M., and Shackelford, S.D., 1991. Effect of calcium chloride infusion on the tenderness of lambs fed a beta-adrenergic agonist *J. Anim. Sci.* 69,2463-2471.
- Koohmaraie, M., Shackelford, D., Muggli-Cockett N.E., and Stone, R.T., 1991. Effect of the beta-adrenergic agonist L644,969 on muscle growth, endogenous proteinase activities, and postmortem proteolysis in wether lambs. *J. Anim. Sci.* 69, 4823-4835.
- Kuehl, R.O., 2000. *Design of Experiments: Statistical Principles of Research Design and Analysis*. 2nd ed. Duxbury Press. Pacific Grove, CA.
- Mersmann, H. J., 1998. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76, 160–172.
- Moody, D.E., D.L. Hancock, and D.B. Anderson., 2000. Phenethanolamine repartitioning agents. Pages 65-96 in *Farm Animal Nutrition*. J.P.F. D’Mello, ed. Cabi Publishing, New York, NY.
- Murdoch, G.K., Okine E.K., and Christopherson R. J., 2006. Metabolic modifiers in

- animal nutrition: potential benefits and risks. Pages 135-178 in *Biology of Nutrition in Growing Animals*. Vol. 4. R. Mosenthin, J.Zentek, and T. Zebrowska, ed. Elsevier. Philadelphia, PA.
- Nourozi , M. Abazari, M., Raisianzadeh, M., Mohammadi, M., ZareShahne, A., 2008
Effect of terbutaline and metaproterenol (two beta-adrenergic agonist) on performance and carcass composition of culled Moghani ewes. *Small. Rumin. Res.*74, 72-77.
- NRC, 1985. *Nutrient requirement of sheep*. (6th Rev. Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- Plascencia, A., Torrentera, N.O., and Zinn, R.A., 2008. Influence of the B-agonist, zilpaterol, on growth performance and carcass characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. (accepted for publication).
- Pringle, T. D., Calkins, C.R., Koohmaraie, M., and Jones, S.J., 1993. Effects over time of feeding a beta-adrenergic agonist to wether lambs on animal performance, muscle growth, endogenous muscle proteinase activities and meat tenderness. *J. Anim. Sci.*71, 636–644.
- Salinas-Chavira, R.G. Ramírez, R.G., Domínguez-Muñoz, M., Palomo-Cruz, R., and López-Acuña, V.H., 2004. Influence of zilpaterol hydrochloride on growth and carcass characteristic of Pelibuey lambs. *J. Appl. Anim. Res.*26, 13-16.
- USDA, 1982. *Official United States Standards for Grades of Carcass Lambs, Yearling Mutton and Mutton Carcasses*. Agric. Marketing Serv., USDA, Washington, DC.

Table 1Effect of zilpaterol supplementation¹ on growth performance responses in feedlot lambs

Item	Zilpaterol level, mg/kg of LW ⁻¹ · d ⁻¹					<i>p</i> ² value		
	Control	0.15	0.20	0.25	SEM	Control vs. Zil	Lin	Qua
Days on test	32	32	32	32				
Pen replicates	4	4	4	4				
Performance								
Live weight, Kg								
Initial ³	38.74	38.82	38.90	38.70	0.26	0.87	0.45	0.74
Final ⁴	45.67	46.55	47.57	46.76	0.75	0.11	0.08	0.12
Total gain, kg	6.93	7.73	8.67	8.07	0.49	0.08	0.04	0.14
Daily gain, g	210	234	263	244	18	0.07	0.12	0.04
DM intake, g/d	1,094	1,098	1,125	1,078	42	0.40	0.79	0.20
Gain/DM intake	0.222	0.246	0.266	0.259	0.012	0.03	0.01	0.14
Observed:expected DMI ⁵	0.98	0.90	0.85	0.87	0.02	0.03	0.01	0.12

¹ Zilmax® fed first 30-d of trial.² *P* = Observed significance level for effect of level of zilpaterol (Zilmax®, Intervet México, México City) supplementation (Control vs. zilpaterol) and lineal and quadratic effect of dose level (0.15, 0.20, and 0.25 mg/ kg of LW⁻¹ · d⁻¹).³ Initial and final full weight reduced 4% to account for fill.⁴ Computed by using final LW = HCW/0.596, where 0.596 is the dressing percent average observed in trial.⁵ Expected DMI was computed as follows: DMI, kg/d = (EM/NE_m) + (EG/EN_g), where EM= maintenance coefficient of 0.056 Mcal/LW^{0.75} (NRC, 1985) and EG is the daily energy deposited (Mcal/d) estimated by equation: EG= ((276*ADG)* SBW^{0.75}, NRC, 1985). The divisor NE_m and NE_g are the NE of diet [calculated from tables of composition of feed (NRC, 1985)].

Table 2Effect of zilpaterol supplementation¹ on carcass characteristics in feedlot lambs

Item	Control	Zilpaterol level, mg/kg of LW ⁻¹ · d ⁻¹				SEM	Control vs. Zil	P ² value	
		0.15	0.20	0.25	Lin			Qua	
Hot carcass wt, kg	27.05	27.72	28.33	27.65	0.55	0.33	0.27	0.17	
Chilled carcass wt, kg	26.66	27.17	27.64	27.21	0.52	0.26	0.95	0.41	
Dressing percentage	58.54	59.67	59.77	60.28	0.03	0.04	0.02	0.48	
LM area, cm ²	16.9	16.5	16.5	16.6	0.8	0.67	0.92	0.94	
Fat thickness, cm	0.38	0.29	0.28	0.26	0.08	0.28	0.23	0.38	
Kidney-pelvic fat, %	2.21	1.52	1.43	1.25	0.11	<0.01	<0.01	0.12	

¹ Zilmax® fed first 30-d of trial.² P = Observed significance level for effect of level of zilpaterol (Zilmax®, Intervet México, México City) supplementation (Control vs. zilpaterol) and lineal and quadratic effect of dose level (0.15, 0.20, and 0.25 mg/ kg of LW⁻¹ · d⁻¹).