Impacto de un prebiótico derivado de la fermentación de *Aspergillus oryzae* en combinación con monensina sobre el desempeño productivo y la calidad de res de novillos en encierre a corral

Tesis presentada para optar el título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Animal

Felipe José Pereyra Yraola

Ingeniero Agrónomo –Universidad de Buenos Aires – 2018

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad de Buenos Aires

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis
Darío Colombatto
Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Ph.D. (The University of Reading)

Co-directora
Natalia S. Forneris
Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Dr. en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Consejeros de estudios
Fernando Bargo
Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
M.Sc. (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Ph.D. (The Pennsylvania State University)

JURADO DE TESIS

JURADO
Cajarville Sanz, María Cecilia
Doctor en Medicina y Tecnología Veterinarias (Universidad de la República)
Ph.D. (Universitat de Lleida)

JURADO
Pozo, Claudio
Ingeniero Zootecnista (Universidad Nacional de Formosa)
Doctor en Zootecnia (Universidad Federal de Santa María)

JURADO
Ávila Stagno, Jorge Eduardo
Médico Veterinario (Universidad de Concepción)
Magister en Producción Animal (Pontificia Universidad Católica)
Ph.D. (University of Sidney)

Fecha de defensa de la tesis: 17 de octubre de 2023

Dedicatoria

A mi familia.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a la empresa Grupo Bermejo y todo el equipo que lo representa por brindarme la oportunidad de continuar mi crecimiento profesional y desarrollo personal.
A Darío a quien desde el primer día que me presenté con la inquietud de continuar con mis estudios de posgrado, con toda su experiencia supo guiarme, formarme y aconsejarme con la mayor predisposición y su excelente profesionalidad, pero más aún, con su enorme calidad humana.
A Natalia que con toda su generosidad, paciencia y capacidad supo guiarme durante largas horas sentados en la computadora procesando y analizando los datos de no solo uno, sino dos proyectos de tesis.
A mis consejeros Fernando e Ignacio quienes supieron brindarme su apoyo desde el primer momento que se inició este proyecto, especialmente por sus consejos en el análisis estadístico de los datos y en la discusión de los resultados obtenidos en este trabajo.
A mis compañeros de la MPA por darme su espacio y tiempo durante las cursadas y en los recreos.
Gracias a todos/as con los que alguna vez hablé de la maestría y la tesis que, con consejos y aliento me dieron motivación para lograr mis objetivos.

Declaración

"Declaró que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución"

Felipe José Pereyra Yraola

Índice General

DECLARACIÓN ..... **VI**

ÍNDICE DE CUADROS ..... **VIII**

ÍNDICE DE FIGURAS ..... **IX**

ABREVIATURAS Y SIGLAS ..... **X**

RESUMEN ..... **XI**

ABSTRACT ..... **XII**

1. INTRODUCCIÓN 1
   1.1. Objetivos *7*
2. MATERIALES Y MÉTODOS 8
   2.1. CICUAL *8*
   2.2. Ubicación y condiciones climáticas *8*
   2.3. Animales *10*
   2.4. Dimensionamiento de los corrales *10*
   2.5. Tratamientos *10*
   2.6. Alimentación: Dietas y Manejo *10*
   2.7. Determinaciones químicas *12*
   2.8. Determinaciones *13*
   2.9. Análisis Estadístico *14*
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 16
   3.1. Perfil nutricional de las dietas utilizadas *16*
   3.2. Peso vivo y ganancia de peso *17*
   3.3. Consumo de alimento e Índice de Conversión *19*
   3.4. Efecto en calidad y crecimiento de carcasa *21*
4. CONCLUSIÓN 24
5. IMPLICANCIAS Y RECOMENDACIONES PARA FUTUROS ESTUDIOS 25
6. BIBLIOGRAFÍA 27

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 2-1. DATOS CLIMÁTICOS DEL CICLO DE ENGORDE OBTENIDOS EN UNA CABINA METEOROLÓGICA AUTOMATIZADA INSTALADA EN EL MISMO ESTABLECIMIENTO. 9

CUADRO 3-1. APORTE NUTRICIONAL DE LAS 3 DIETAS SUMINISTRADAS EN EL PERIODO DE TERMINACIÓN A CORRAL. RESULTADOS EXPRESADOS EN BASE SECA, EXCEPTO MATERIA SECA (MS) QUE SE EXPRESÓ EN PORCENTAJE DE MATERIA HÚMEDA (%MH).. 16

CUADRO 3-2. EFECTO DE SUPLEMENTACIÓN CON AM DURANTE EL PERIODO DE ADAPTACIÓN Y TERMINACIÓN SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL PESO VIVO (PV) Y EL AUMENTO DIARIO DE PESO (ADPV) DE NOVILLOS EN FEEDLOT. 17

CUADRO 3-3. EFECTO DE SUPLEMENTACIÓN CON AM EN CONSUMO DE MATERIA SECA (CMS) Y EFICIENCIA ALIMENTICIA (ÍNDICE DE CONVERSIÓN, IC) DE NOVILLOS EN FEEDLOT. 19

CUADRO 3-4. EFECTO DE SUPLEMENTACIÓN CON AM DURANTE TODO EL CICLO DE ENGORDE EN CRECIMIENTO Y CALIDAD DE CARCASA DE NOVILLOS EN FEEDLOT. 22

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2-1. EVOLUCIÓN DE LAS DIETAS DURANTE EL CICLO DE ENGORDE **12**

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADPV: aumento diario de peso vivo
AM AOB: aumento mensual del área de ojo de bife
AM EGD: aumento mensual del espesor de grasa dorsal
AOB: área de ojo de bife
AM: *Amaferm*
AO: *Aspergillus oryzae*
APC: antibiótico como promotor de crecimiento
ADG: average daily gain
BF: back fat thickness
BW: body weight
CMS: consumo de materia seca
d: día
DMS%: digestibilidad de la materia seca (expresada en porcentaje)
EGD: espesor de grasa dorsal
EM: energía metabolizable
FDA: fibra en detergente ácido
FDN: fibra en detergente neutro
g: gramo
IC: índice de conversión alimenticia
ISAPP: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
kg: kilogramo
MH: materia húmeda
MS: materia seca
PB: proteína bruta
PCC: peso caliente de la carcasa
PV: peso vivo
REA: rib eye area
USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
YG: USDA Yield Grade

RESUMEN

Mil doscientos novillos, de aproximadamente 18 meses de edad y 307,8 ± 17 kg de peso vivo (PV) inicial y provenientes de un mismo campo de recría, fueron utilizados en un diseño completamente aleatorizado para determinar los efectos de la suplementación con un aditivo tipo prebiótico producto de la fermentación del hongo multicelular *Aspergillus oryzae* (AM; 2 g Amaferm©/d, BioZyme Inc.) en combinación con monensina durante todo el ciclo de un engorde a corral. Los novillos fueron asignados aleatoriamente a 8 corrales (150 novillos por corral) y cada corral fue asignado aleatoriamente a uno de los 2 tratamientos: una dieta control que incluía monensina (M) y el segundo tratamiento se suplementó a la dieta control con AM (M+AM). Las dietas utilizadas durante el ciclo de engorde de 108 días fueron: Fase 1 (10 d), Fase 2 (7 d) y Fase 3 (91 d) en un sistema de reparto diario de alimento en comedero y de ajuste del consumo mediante lectura diaria de comedero. Se utilizó un modelo multinivel, mediante el procedimiento PROC MIXED de SAS, para evaluar las variables consumo de alimento e índice de conversión (IC), peso vivo y su aumento diario de peso (ADPV), incluyendo también su efecto en la calidad y crecimiento de carcasa medido mediante ultrasonido. No se observaron diferencias en el consumo de alimento los tratamientos en las 3 dietas utilizadas ($P > 0,10$). Los novillos suplementados con AM tuvieron un mayor ADPV (+0,168 kg/d; $P = 0,003$) y PV_{d20} (+5,5 kg; $P < 0,001$) durante el periodo de adaptación, no así durante la terminación donde el ADPV fue similar para ambos tratamientos. No obstante, el PV_{d108} (+4,6kg; $P = 0,095$) tendió a ser mayor cuando se lo suplementó con AM, lo que se explicaría por el mayor ADPV durante la adaptación. No hubo diferencias en el IC analizado para todo el ciclo ($P = 0,589$). Durante el periodo de terminación, se observó un impacto en la tasa de crecimiento del área ojo de bife (AOB) (+0,54 cm^2 / mes*; $P = 0,016$*) y una tendencia hacia una mayor tasa de engrasamiento dorsal (EGD)(+0,11 mm / mes*; $P = 0,069$*) con la inclusión de AM. Al finalizar el ciclo de engorde se detectó una tendencia a un mayor AOB (+1,39 cm^2; $P = 0,101$) cuando se suplementó con AM, sin diferencias en el EGD. Los resultados indican que la inclusión de AM tuvo un impacto positivo en la respuesta productiva durante su adaptación, con mejoras en el crecimiento de la carcasa durante la terminación.

Palabras clave: feedlot, adaptación, ganancia de peso, prebióticos, Amaferm

ABSTRACT

One thousand two hundred steers, approximately 18 months of age and 307,8 ± 17 kg of initial BW and coming from the same backgrounding operation were used in a completely randomized design to determine the effects of adding a prebiotic like-action additive product of the fermentation of *Aspergillus oryzae* (AM; 2 g Amaferm©/d) combined with monensin during the whole period of a feedlot. Steers were randomly assigned to 8 pens (150 steers per pen) and each pen was randomly assigned to one of 2 treatments: a control diet that included monensin (M) was randomly assigned to 4 pens, whereas in the second treatment, AM (M+AM) was added to the control diet. The diets used during the 108 days feedlot period were: Step 1 (10 d), Step 2 (7 d) and Step 3 (91 d) in a daily feed delivery system at the feed bunk, using feed bunk management to adjust intake. A multilevel model was used, using the PROC MIXED procedure of SAS, to evaluate feed intake, feed to gain ratio, live weight and ADG for each period, also including effects on carcass quality and growth measured by ultrasound. Feed intake was not affected by treatments in any of the 3 diets used (P > 0.10). Steers fed AM had a higher ADG (+0,168 kg/day; P = 0,003) and BW_{d20} (+ 5,5 kg; $P < 0,001$) during the adaptation period, but not so during the finishing phase, where ADG was similar for both treatments. However, BW_{d108} showed a trend (+4,6kg; P=0,095) when supplemented with AM, which might be attributable to the higher ADG during the receiving period. There were no differences in F:G for the entire period (P=0,589). During the finishing period, an impact on the REA growth rate (+ 0,54 cm^2/month; $P=0,016$) and a trend towards a higher rate of back fat deposition (+ 0,11 mm/month; $P=0,069$) were observed with the inclusion of AM. At the end of the finishing period, there was a trend (+1,39 cm^2**;** $P = 0,101$) towards a higher REA when it was supplemented with AM and there were no differences in the BF. Our results showed that the addition of AM throughout the feedlot period had a positive impact on the productive response during the adaptation period, which was followed by improvements in carcass growth during the finishing period.

1. INTRODUCCIÓN

La producción y sanidad animal a nivel mundial han experimentado un cambio significativo en los últimos años debido a la creciente preocupación sobre el uso inapropiado de antibióticos en la alimentación animal y sus posibles efectos adversos, como la resistencia a los antibióticos (Tang et al., 2017). Esta preocupación se ha convertido en un tema central en la salud pública global, lo que ha llevado a la adopción de estrategias por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para abordar el aumento de la resistencia a los antibióticos tanto en humanos como en animales (Tang et al., 2017). Este contexto ha dado lugar al concepto de "Una Salud" (One Health), que busca abordar los desafíos de promoción de la salud desde una perspectiva sistémica y multidisciplinaria. Esta estrategia se enfoca en mejorar la sanidad, la higiene y optimizar el uso de antibióticos en humanos y animales (Lee y Brumme, 2013).

Precisamente, los propios consumidores a nivel mundial comenzaron a generar interés en temas como sustentabilidad, bienestar animal, responsabilidad ambiental, trazabilidad, resistencia a los antibióticos, uso de promotores de crecimiento, sistemas de producción naturales u orgánicos y otras áreas que se están volviendo cada vez más comunes y han surgido como elementos centrales en las campañas de marketing adoptadas por importantes empresas abastecedoras de alimentos. Como consecuencia, grandes proveedores de productos cárnicos ejercen influencia sobre los productores, alentándolos a implementar prácticas de producción que se perciban como alineadas con los intereses de los consumidores. Entre los principales actores se encuentran las cadenas de frigoríficos, mayoristas, cadenas de supermercados, hoteles y restaurantes. Esta evolución desafía los sistemas convencionales de producción animal y está obligando a cambios vertiginosos en las prácticas de producción. Como consecuencia, los puntos primordiales de muchos programas de investigación alrededor del mundo han cambiado para abarcar estos temas (Drouillard, 2018).

Se estima que la demanda mundial de proteínas en un período de 50 años comprendido entre 1980 y 2030 crecerá unas tres veces y media (Zunino, 2018). Estas perspectivas imponen un desafío productivo a los sistemas de generación de proteínas en el mundo, en particular aquellas de origen animal. En consecuencia, se requerirá lograr un balance entre el incremento de la producción animal y vegetal y los instrumentos para

el logro de este objetivo, entre los que se encuentra el empleo de antimicrobianos. El uso de antimicrobianos en salud y producción animal adquiere la dimensión adicional del riesgo de potenciales efectos deletéreos sobre los consumidores asociados a residuos en productos de origen animal. Además de los riesgos directos para la salud, esto puede generar limitaciones comerciales por parte de los mercados compradores cada vez más exigentes. El uso de antibióticos como promotores de crecimiento para animales ha sido controvertido durante mucho tiempo debido a su asociación al desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos en animales y humanos (Williams et al., 1998), lo que resultaría en la ineficiencia del tratamiento cuando es necesario (Marshall et al., 2011). La restricción del uso de antibióticos en la alimentación animal es un tema controvertido a nivel mundial (Salim et al., 2018). Ya sea como resultado de las presiones del mercado o de cambios regulatorios, parece inevitable que los sistemas de producción de carne del futuro tiendan a emplear prácticas de producción que limiten a un uso racional de antibióticos (Drouillard, 2018).

Goulart (2011) afirma que las investigaciones en nutrición de rumiantes deberían tener como objetivo primordial comprender y mejorar la eficiencia, la productividad (producción animal) y la sostenibilidad. Esto ha generado un creciente interés en evaluar distintos aditivos naturales que mejoren la producción y salud de los animales a lo largo del ciclo y principalmente en los sistemas intensivos de terminación (Zerby et al., 2011).

Jouany y Morgavi (2007) definieron los aditivos ideales como ingredientes de la dieta que disminuyen la producción de metano, aumentan la producción de propionato junto con el balance energético neto de los animales, mejoran la eficiencia en la utilización del nitrógeno y a su vez reducen el riesgo de trastornos metabólicos. Dentro de este grupo están los aditivos antibióticos que se utilizan como promotores del crecimiento de los animales (APC). Desde los años 70, los APC se han utilizado masivamente para mejorar la salud y la productividad de los animales en los sistemas ganaderos de EE UU y muchos otros países (Kan et al., 1998; Barton, 2000; McGuffey et al., 2001). Russell y Houlihan (2003), plantearon que no existe asociación entre la resistencia de antibióticos de uso humano y la resistencia al uso de ionóforos en rumiantes, debido a que los mismos no son utilizados para el tratamiento de enfermedades en humanos. La monensina es un ionóforo producido por la bacteria *Streptomyces cinnamonensis*, que se utiliza en las dietas de los corrales de engorde como una estrategia nutricional de adopción generalizada debido a su efectividad para mejorar la conversión alimenticia (relación alimento / ganancia de peso) (Morris et al., 1990; Owens et al.,

1991), la cual se atribuye a su inhibición selectiva de bacterias gram positivas, promoviendo concentraciones de propionato ruminal más altas que dan como resultado una menor relación de acetato: propionato (Russell y Strobel, 1989; Chow et al., 1994). Los beneficios productivos que derivan de la utilización de la monensina para alimentar al ganado vacuno son bien conocidos (Chalupa, 1979; Goodrich et al., 1984; Vogel, 1995; McDougall et al., 2004; Gallardo et al., 2005; Meléndez et al., 2006). En feedlots comerciales, se ha demostrado que este ionóforo mejora la conversión alimenticia (IC) en un 7,5%, como resultado de reducir la ingesta de materia seca (CMS) y un 1,6% el aumento diario de peso vivo (ADPV) (Goodrich et al., 1984; Di Costanzo et al., 1996).

Como se mencionó anteriormente, hoy en día existe una demanda real de alternativas de aditivos por parte de los productores, y de productos naturales y seguros en la cadena alimenticia por parte de los consumidores. A tal efecto, numerosas sustancias, como probióticos, prebióticos, algunos aceites esenciales involucrados en las vías metabólicas, las hierbas y los extractos de plantas, pueden ofrecer algunos de los beneficios que brindan los antibióticos (Jouany y Morgavi, 2007; Benchaar et al., 2008). Dentro de las alternativas mencionados, existen aditivos producidos a través de la fermentación microbiana que son capaces de mejorar la capacidad de la microbiota para degradar sustratos y, por lo tanto, de aumentar la disponibilidad de nutrientes de los alimentos ingeridos. Dichos aditivos pueden considerarse prebióticos o poseer una acción similar a la de éstos. Según la definición de la ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics), los prebióticos son substratos que alteran la composición y/o función de la microbiota y como resultado generan un beneficio para el hospedante, teniendo el potencial de mejorar la función digestiva (regulación intestinal), apoyar las defensas naturales del cuerpo, mejorar la absorción de minerales, ayudar a regular el consumo voluntario, el equilibrio energético y el metabolismo de la glucosa. Para que una sustancia sea considerada prebiótica, se deben documentar los efectos beneficiosos para la salud (Gibson et al., 2017).

Amaferm© es un prebiótico, resultado del producto de la fermentación de multiples pasos del hongo *Aspergillus oryzae* (AM), Biozyme Inc., St Joseph, MO, EEUU). Este proceso fue descubierto por H. E. Kistner y patentado (NRRL 458) por Biozyme^{TM} Corporation en 1968. Este proceso es crucial para el producto final, ya que AM es altamente adaptable y puede producir una variedad de compuestos y metabolitos según las condiciones de cultivo y fermentación. La extracción del substrato se realiza mediante presión y abrasión, tanto química como mecánica, para liberar los substratos

basados en proteínas. Es importante destacar que no quedan células vivas en los substratos aislados después de completar el proceso. A diferencia de muchos otros productos AO (compuestos enzimáticos, probióticos) en el mercado actual, este proceso garantiza la producción de un producto consistente y de alta calidad diseñado exclusivamente para su uso en dietas animales (BiozymeTM Corporation).

El AM ha sido utilizado durante mucho tiempo en la industria alimenticia japonesa para fermentar alimentos como el saki, la salsa de soja y el miso, considerándose seguro ya que no produce aflatoxinas (Uchida et al., 2006). Particularmente, en rumiantes, se usa y promover la ingesta y digestibilidad del alimento, resultando en mejoras de la producción . Se ha documentado que mejora la degradación de la materia orgánica y, por lo tanto, mejora el suministro de energía (Frumholtz et al., 1989; Sun et al., 2017) y proteína metabolizable (Gómez-Alarcón et al., 1990) al animal huésped mediante la estimulación de la microbiota gastrointestinal (Beharka y Nagaraja, 1993; Gómez-Alarcón et al., 1991). La estimulación del crecimiento y el metabolismo de los hongos se ha documentado en estudios con el hongo del rumen *Neocallimastix frontalis* (Chang et al., 1999). Beharka y Nagaraja (1993) observaron que la tasa de crecimiento de las bacterias que digieren la fibra (*Ruminococcus albus* y *Fibrobacter succinogenes*), tanto celulosa y hemicelulosa, aumentaba en presencia de AM. Las bacterias capaces de utilizar lactato como fuente de carbono (*Selenomonas ruminantium* y *Megasphaera elsdeni)* también se beneficiaron con la adición de AM en ensayos *in vitro* (Martin y Nisbet, 1990; Beharka y Nagaraja, 1993). La estabilización del pH ruminal es una de las propiedades más importantes para este tipo de aditivos en rumiantes (Podversich et al. 2020). Se ha demostrado que la inclusión de AM reduce la caída del pH observada 2 horas después de la adición del alimento en trabajos *in vitro* (Frumholtz et al. 1989). Dichos autores sugirieron que esta caída posiblemente se exacerbe en condiciones *in vivo*, donde el líquido ruminal no está tan fuertemente amortiguado por las condiciones dadas.

En animales destinados a engorde a corral, especialmente en su período de recepción, las dietas ricas en almidón suelen promover la producción de ácido láctico en el rumen, lo que se correlaciona con un mayor riesgo de acidosis (González et al., 2012). En referencia a los animales recién ingresados al corral, éstos sufren numerosos factores estresantes que resultan en respuestas endócrinas transitorias, productos del metabolismo energético y proteico alterados, cambios en el apetito y la tasa de crecimiento, una limitación de la función gastrointestinal y ruminal, y un sistema inmunológico desafiado (Loerch y Fluharty, 1999). En esta etapa, la acidosis ruminal y la alimentación con dietas

altamente energéticas generalmente se han asociado con una reducción en la ingesta de alimento (Britton y Stock, 1989; Stock et al., 1995; Nickles y Relling, 2017), daño del tejido del tracto digestivo (Aslan et al., 1995; Nocek, 1997), abscesos hepáticos (Nagaraja y Chengappa, 1998; Nagaraja y Titgemeyer, 2007), laminitis (Nocek, 1997) y respuestas inflamatorias (Plaizier et al., 2009). Todos estos efectos pueden no sólo reducir la producción y la rentabilidad animal, sino también el bienestar animal (González et al., 2012). El impacto económico causado por los efectos de la acidosis subclínica sobre el rendimiento animal podría ser mayor que el de la acidosis aguda (Britton y Stock, 1989). La acidosis subclínica, causa reducción de consumo y bajas en la producción animal sin que los animales necesariamente parezcan enfermos parezcan enfermos (Owens et al., 1998). Fomentar el desarrollo de bacterias que utilizan lactato puede reducir dicho riesgo. En tal sentido, a partir de una suplementación con AM, dichas mejoras tendrían un impacto positivo durante este período estresante, y consecuentemente, reduciría el tiempo de ingesta deprimida (Fluharty y Relling, 2014). Del mismo modo, la estabilidad en la función del rumen sería muy importante para asegurar una conversión alimenticia óptima durante todo el período, al minimizar los casos de acidosis ruminal subaguda (Fluharty y Relling, 2014).

En bovinos de leche, el impacto que tiene la utilización de este prebiótico sobre la producción está respaldado por una extensa cantidad de trabajos publicados alrededor del mundo. Cantet et al. (2019) presentaron un meta-análisis que sintetiza los resultados de 18 ensayos publicados, donde las vacas alimentadas con AM (tasa de inclusión entre 3-5 g/vaca/día) produjeron casi 1 kg más de leche/día en comparación con el tratamiento control. La respuesta en la producción de leche a AM no dependió de la concentración dietética de fibra (NDF) ni de la etapa de lactancia (días en leche) de las vacas lecheras. La independencia entre la composición de la dieta en este tipo de producción y la respuesta de la leche a AM está en línea con la capacidad de este aditivo prebiótico de no sólo mejorar el crecimiento de la microbiota que degrada las fibras, sino también de las bacterias del rumen que utilizan almidón y lactato. Además, el uso de AP resultó en un incremento en la ingesta total de materia seca que, en los 18 trabajos, promedió aproximadamente 0,39 kg MS/día. La respuesta en producción de leche fue mayor que la ingesta, por lo que la suplementación resultó en incrementos en la eficiencia de conversión alimenticia.

A diferencia de lo observado en sistemas de producción lechera, la utilización de AM en programas de engorde a corral ha sido escasamente estudiado y limitadamente

comprendido, teniendo en cuenta las diferencias encontradas en su impacto según el modo de procesamiento del grano de maíz y consecuentemente la degradabilidad del almidón AM. *Aspergillus Oryzae* proporciona factores de crecimiento no identificados a los microorganismos ruminales (Martin y Nisbet, 1990). Los efectos sobre la producción animal son los más variables, con situaciones en las que este aditivo mejoró la conversión alimenticia y otros escenarios en los que no lo hizo, lo que sugiere una respuesta diferencial según la fuente de alimentación (Podversich et al. 2020).

Jouany y Morgavi (2007) presentaron una revisión de diferentes alternativas de aditivos naturales. Los autores concluyeron que, a diferencia de los antibióticos, que tienen un objetivo microbiano específico, la diversidad en modos de acción de los aditivos naturales hace que las respuestas productivas a su uso sean menos consistentes y predecibles. Su eficacia está influenciada por el tipo de alimento y el estado fisiológico del animal. Las interacciones que ocurren entre los aditivos, los alimentos y el hospedador son complejas, y se necesita más investigación para mejorar la comprensión de estos procesos. Este conocimiento ayudaría a predecir cuándo un aditivo alimentario determinado puede ser útil, reduciendo así las inconsistencias en la respuesta observadas en la producción comercial.

El presente trabajo de investigación busca responder el siguiente interrogante: ¿Qué impacto productivo y sobre la calidad de res tiene la adición de AM en un corral de engorde de novillos? Existen escasos estudios sobre el uso de este prebiótico en programas de engorde a corral. Debido a esto y a la problemática mundial planteada anteriormente, evaluar el impacto de la inclusión de un aditivo natural en un feedlot constituye un área de interés académico.

Se espera que la utilización de AM en combinación con monensina genere un impacto positivo en la producción animal con respecto a la dieta control que incluye únicamente monensina.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar el uso de AM sobre la producción de novillos engordados a corral. Generar nuevos conocimientos en la búsqueda de alternativas que mejoren el desempeño productivo en engorde de novillos en feedlots comerciales.

1.1.2. Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta productiva en términos de ganancia de peso en el período de adaptación y terminación ante la suplementación con 2 gr de AM en combinación con monensina.
- Evaluar el efecto de 2 gr de AM sobre el consumo de materia seca en el período de adaptación y en cada dieta utilizada para el engorde.
- Evaluar el impacto de 2 gr de AM en combinación con monensina en términos de la conversión de alimento a carne, calidad de la carcasa al final del ciclo y las tasas de crecimiento durante la dieta de engorde de los parámetros que influyen sobre la calidad de carcasa

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. CICUAL

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires (2019/48).

2.2. Ubicación y condiciones climáticas

El estudio se llevó a cabo entre septiembre de 2019 y enero de 2020 en el feedlot "Grupo Bermejo" ubicado en Herrera Vegas, Provincia de Buenos Aires, Argentina (36° 07' 19.45 " S, 61° 28' 55.97 " O). . Las condiciones climáticas durante el estudio se describen en el Cuadro 2-1.

Cuadro 2-1. Datos climáticos del ciclo de engorde obtenidos en una cabina meteorológica automatizada instalada en el mismo establecimiento.

Componente	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
Precipitación acumulada, mm	2	63	27	91	129
Temperatura media, °C	15	15	21	21	21
Temperatura máxima, °C	32	30	35	38	31
Temperatura mínima, °C	-1	2	6	4	10
Sensación térmica, °C	14	14	20	21	21
Velocidad media del viento, km/h	13	12	11	8	6
Humedad relativa media, %	56	67	62	62	72

2.3. Animales

Un total de 1200 novillos de raza Aberdeen Angus de aproximadamente 18 meses de edad, con un peso vivo inicial (PV_i) de 307,8 ± 17 kg, fueron utilizados siguiendo un diseño completamente aleatorizado. Previo al período de terminación a corral, los novillos se recriaron sobre pasturas templadas en un establecimiento de la misma empresa ubicado en Olavarría, Provincia de Buenos Aires, Argentina (36° 38' 54.26" S, 60° 27' 24.88" O), a 140 kilómetros de distancia del corral de engorde.

2.4. Dimensionamiento de los corrales

Las dimensiones de los corrales fueron de 50 metros (largo de comedero) por 70 metros, lo que resultaría en una capacidad instantánea de 150 cabezas/corral (33 cm/cabeza de comedero y 23,3 m^2/cabeza). El suministro de agua estaba ubicado en el medio del corral sobre un piso de hormigón con capacidad de almacenamiento de 150 litros y suministro de alto flujo que proveía agua fresca, limpia y palatable. Previo al ingreso de la hacienda, se utilizó maquinaria de limpieza para remover todas las excretas superficiales restantes y reconstruir los dormideros en el centro del corral.

2.5. Tratamientos

A su llegada, los novillos fueron asignados aleatoriamente a 8 corrales de 150 animales cada uno, y cada corral fue asignado al azar a uno de los dos tratamientos posibles (4 corrales por tratamiento). El tratamiento M: Monensina (33 mg/kg MS o 33 ppm, Rumensin®, Elanco Animal Health, Clinton, IN, USA) y el tratamiento M+AM: Monensina (33 mg/kg MS) más 2 gramos/día/cabeza de Amaferm (Biozyme Inc; St Joseph, MO, USA). El producto comercial Amaferm resulta de la fermentación controlada de una cepa específica de Aspergillus Oryzae usando un proceso patentado de varios pasos propiedad de BioZyme Inc. (St Joseph, EE. UU.). Este proceso genera una biomasa estandarizada libre de células viables que posteriormente se mezcla con un transportador para facilitar el manejo y la mezcla con los alimentos.

2.6. Alimentación: Dietas y Manejo

Las dietas utilizadas fueron las mismas para todos los corrales y correspondieron a las que se manejan comúnmente en el feedlot el cual presentaba la habilitación para Cuota 481. La cuota 481 (también denominada Grain Fed) es un cupo de exportación de carnes deshuesadas "High Quality Beef" procedentes de establecimientos de engorde a corral por un periodo mínimo de 100 días, con destino la Unión Europea, siendo la misma libre de aranceles. Las dietas fueron formuladas para cubrir los requerimientos de novillos de 390 kg peso medio y una ganancia diaria de peso vivo de 1,3 kg/d según NASEM (2016). Las 3 dietas fueron: Dieta 1 (dieta de adaptación), Dieta 2 (dieta de transición) y Dieta 3 (dieta de terminación, con habilitación para Cuota 481 por concentración energética mayor a 2,93 Mcal EM/kg MS) (Cuadro 2-2).

La dieta fue preparada en una planta automatizada del feedlot y suministrada 3 veces por día (2 veces por la mañana el 30% en base tal cual a las 08:00 y 9:45 hs y 1 vez el 40% en la tarde a las 15:30 hs). La inclusión de AM fue sólo en la segunda entrega del día, con el propósito que cada animal recibiera la dosis objetivo de 2 g/d al asegurarse que todos lleguen al comedero, entendiendo que aquellos más hambrientos ya habían recibido un 30% del suministro diario de la primer tirada. Se tomaron dos muestras de alimento (100 g de materia verde cada una) de cada dieta a lo largo del ensayo (a los días 7, 14 y 60), las cuales fueron congeladas y enviadas a analizar posteriormente.

Cuadro 2-2. Composición nutricional de las 3 dietas suministradas durante el ensayo

Componente	**Dieta 1**	**Dieta 2**	**Dieta 3**
Periodo de Engorde, d	**01-10**	**11-17**	**18-108**
Ingrediente, % MS[1]			
Grano de maíz partido	22,70	45,35	74,10
Pellet de harina de girasol	22,00	13,00	7,30
Silaje de planta entera de maíz	53,80	39,45	16,15
Premezcla vitamínica-mineral[2]	1,50	1,50	1,50
Urea	0,00	0,70	0,95
Monensina, mg/kg MS[3]	33	33	33
Amaferm, g/d[4]	2	2	2

[1] MS = Materia Seca

[2] Vitamina E 202 UI/kg, Zinc 1398,1 ppm, Manganeso 901,6 ppm, Selenio 5,01 ppm, Yodo 24,84 ppm, Cobre 498,83 ppm, Cobalto 5,01 ppm, Sulfuro 3000 ppm, Sodio 1,9%, Magnesio 0,73%, Calcio 34,33%

[3] Monensina fue incluida al 0,2% en la premezcla vitamínica-mineral

[4] Amaferm fue únicamente incluido en el tratamiento Monensina+Amaferm, a razón de 2 gramos/cabeza/día durante todo el ciclo

El consumo de materia seca se ajustó diariamente mediante lectura de comederos, con el objetivo de encontrar "migajas" (score 1) cada mañana previo a la primera entrega. (Pritchard, 2003). La oferta de la ración inicial (Dieta 1) se fijó en base seca al 1,5% del peso vivo promedio de cada corral. En la Dieta 1, cuando la lectura de comedero era 0 (sin remanente, comedero lamido), la cantidad de alimento se incrementó en un 10% cada día. En las Dieta 2 y 3, sólo recién cuando dos lecturas de comedero consecutivas eran 0 se aumentaba la entrega en un 5%. Si la lectura de comedero era 3 o 4, ese mismo día la oferta de comida se reducía un 5 y un 10%, respectivamente.

La dieta de recepción (Dieta 1) se entregó durante los primeros 10 d; posteriormente se adaptaron a la dieta de terminación durante 7 días utilizando una dieta intermedia (Dieta 2), entregada durante los días 11 al 17. La dieta de terminación hasta la salida (Dieta 3) fue del día 18 al 108 (ver Figura 2-1).

Figura 2-1. Evolución de las dietas durante el ciclo de engorde

Todos los cambios de dieta se realizaron manteniendo la cantidad de alimento suministrado del día anterior en base seca.

2.7. Determinaciones químicas

Las muestras de alimento recolectadas durante el ensayo, posteriormente a ser congeladas, fueron enviadas al Laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina, Buenos Aires. Todas las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado.

La determinación de MS a 105 °C se realizó por el método 44-16.01 (AACC, 1995). El valor de nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldhal (46-12.01, AACC, 1995), multiplicando luego los valores obtenidos por 6,25 para expresarlos como PB (AOAC 976.05, AOAC International, 1990). El contenido de FDN y FDA se determinó según Ankom (2005) y Goering and Van Soest (1970). Por su parte, la

digestibilidad de la materia seca (DMS%) fue estimada a partir de la ecuación de Linn y Martin (1989): donde TND% es igual a DMS% y TND% = 88,9 – (0,779 * FDA%). La concentración de energía metabolizable **(**EM**)** de alimentos y forrajes se estimó según la ecuación de NRC (1996): EM (Mcal EM/ kg MS) = 4,4 Mcal EM/ kg MS * 0,82 (pérdida en orina y gases)* DMS%.

2.8. Determinaciones

El primer día del ensayo, se colocó a cada novillo una caravana electrónica en la oreja (Datamars SA, Auckland, NZ) y se registró el peso vivo utilizando un cabezal Tru-test XR5000 (Tru-Test Ltd. Auckland, NZ) en una manga hidráulica para ganado Hidragold Classic (Farmquip Argentina, Acebal, Santa Fe). Los animales se les aplicó contra parásitos internos y externos con 8 mL de Ivermectina inyectable (Bagomectina®, Biogénesis Bagó SA, Garín, Buenos Aires, Argentina) y 8 mL de Ricobendazol inyectable (Paraxane®, Biogénesis Bagó SA, Garín, Buenos Aires, Argentina)

En cada animal se realizaron las siguientes determinaciones:

- **Peso Vivo**. El peso vivo (PV) se registró tres veces durante la prueba, el día del arribo (d 0), al d 20 (fin del período de adaptación) y al d 108 (final del período de terminación). Para el peso vivo al d 20 y 108 se le aplicó un 7% de desbaste debido a que no se hizo ningún tipo de ayuno previo del momento de la pesada.

- **ADPV**. Para cada período, el aumento diario de peso vivo (ADPV) se calculó como la diferencia en kilos entre el peso inicial y final del período dividido por los días transcurridos entre ambas pesadas.

- **Ecografía de Carcasa**. Sobre una muestra seleccionada al azar (45 animales por corral 30% de cada corral) utilizando una sonda de ultrasonido Wi-Fi SU-2 (Tecnovet, S.L. Barcelona, España) vinculado a un iPad mediante la aplicación SmartVUS zn (SonopTek Co, Ltd. Beijing, China). Se estimó el área del ojo de bife (AOB) y el espesor de grasa dorsal (EGD) entre la 12° y 13° costilla al día 20 y al día 108 sobre esos mismos animales. Al final del período de engorde se incluyó el parámetro Marbling (grasa intramuscular). El trabajo a campo y el análisis de las imágenes fueron realizados por un ecografista calificado.

- **Peso de Carcasa**. Siete días después del último pesaje individual, los novillos fueron apartados y transportados para la faena al "Frigorífico Rioplatense SAICIF" (General Pacheco, Buenos Aires, Argentina), distante a 370 km del corral de engorde. A la mañana siguiente, se faenaron los novillos, momento en el que se determinó el peso de la carcasa caliente (PCC).

- **USDA Yield Grade.** El grado de rendimiento (en inglés, Yield Grade) es una estimación del porcentaje de rendimiento de los cuatro cortes de mayor valor de carne bovina (paleta, costilla, lomo y cuarto). Se calculó mediante la ecuación:

  Yield Grade = 2,50 + (2,50 x EGD (pulgadas)) + (0,20 x % de grasa pélvica, corazón y riñonada) + (0,0038 x PCC (libras)) – 0,32 x AOB (pulgada^2))

  La proporción de grasa pélvica, corazón y riñonada (en inglés KPH) fue estimada en 3% para ambos tratamientos.

- **Consumo de Materia Seca (CMS)**. El reparto del alimento se registró diariamente mediante el programa VESTA Nutrack (Vesta S.A., Rosario, Santa Fe, Argentina) incorporado en el camión racionador autopropulsado Iveco Tector (Iveco Argentina S.A., Vicente López , Buenos Aires, Argentina). Con la información de %MS de la dieta, cantidad de cabezas por corral y cantidad de alimento suministrado diariamente en base húmeda, se estimó el CMS como cantidad alimento suministrado en base húmeda * % MS de la dieta *n* / cantidad de animales en el corral *x.* El CMS fue medido por corral, se lo expresó por cabeza únicamente para relacionarlo con el resto de las variables evaluadas. El establecimiento presenta una exhaustivo protocolo de auditoria en los procesos de alimentación, siendo no significativas las mermas que pudiesen haber en el mismo.

- **Índice de Conversión (IC)**. Se calculó a partir de la cantidad de alimento consumido en materia seca durante todo el período de engorde sobre el promedio de los kilogramos producidos durante todo el ciclo del corral *x*.

  IC (kg MS/kg PV) = CMS (kg MS) / kg ganados d0-d108 (kg PV)

2.9. Análisis Estadístico

Los datos de PV, ADPV, AOB y EGD se analizaron con un modelo de tres niveles, en donde los dos primeros niveles (medidas repetidas dentro de los novillos) se modelaron con un modelo multinivel y el tercer nivel (corral) se modeló con un enfoque de efectos fijos, que es menos susceptible a tamaños de muestra pequeños en el tercer nivel de jerarquía y produce la máxima cantidad de potencia (McNeish y Stapleton, 2016; McNeish y Wentzel, 2016). El modelo se puede escribir como:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_j + \alpha_{k(j)} + \gamma_l + T\gamma_{jl} + e_{ijkl}$$

donde μ es la media poblacional; T_j es el efecto fijo del *j*-ésimo tratamiento; $\alpha_{k(j)}$ es el efecto fijo del *k*-ésimo corral anidado dentro del *j*-ésimo tratamiento (4 corrales por tratamiento); γ_l es el efecto fijo del *l*-ésimo tiempo o período de tiempo (para PV, n_l = 3: 0, 20 o 108 días desde el inicio del experimento; para ADPV, n_l = 2: período de recepción o terminación; para AOB y EGD, n_l = 2: 20 o 108 días desde el inicio del experimento); $T\gamma_{jl}$ es el efecto fijo de la interacción y e_{ijkl} es el residual del *i*-ésimo novillo con el *j*-ésimo tratamiento en el *k*-ésimo corral y en el *l*-ésimo tiempo o período de tiempo. Para tener en cuenta la falta de independencia entre observaciones repetidas de un mismo animal, los errores e_{ijkl} se modelaron utilizando una estructura de covarianzas autorregresiva heterogénea de primer orden (ARH1), en la cual sus parámetros de covarianza (n_l + 1) varían entre tratamientos. La estructura de covarianza se eligió según el criterio de información Akaike, comparando cuatro estructuras de covarianza para cada variable (simetría compuesta, orden autorregresivo uno, orden autorregresivo heterogéneo y no estructurado), y se utilizó la estructura que arrojó el criterio de información akaike (AIC) más pequeño. Los datos para el marmoreado, YG y el PCC se modelaron de manera similar a lo anterior, pero eliminando los efectos γ_l y $\beta\gamma_{kl}$ del modelo y con las variables que solo se midieron al final del período del corral de engorde. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc. 2014., Cary, NC, USA). Se utilizó el método de máxima verosimilitud restringida, junto con la corrección de Kenward-Roger para los grados de libertad.

Los datos de CMS se analizaron por separado para cada dieta con el siguiente modelo:

$$Y_{jkl} = \mu + T_j + \gamma_l + T\gamma_{jl} + e_{jkl}$$

donde μ es la media de la población; T_j es el efecto fijo del *j*-ésimo tratamiento; γ_l es el efecto fijo del día *l*-ésimo desde el inicio de la dieta (para la dieta 1: n_l = 1,…, 10; para la dieta 2: n_l = 1,…, 7; para la dieta 3: n_l = 1,…, 91); $T\gamma_{jl}$ es el efecto de interacción fijo y e_{jkl} es el residuo del *j*-ésimo tratamiento en el *k*-ésimo corral y en el *l*-ésimo día.

Todos los datos se presentan como medias ± error estándar de la diferencia entre las medias (EED), calculándose el EED utilizando el menor número de observaciones para cada variable medida. Los intervalos de confianza del 95% se incluyen como la diferencia entre tratamientos. Las medias fueron comparadas utilizando Tukey-Kramer. Los efectos del tratamiento se consideraron significativos cuando $P \leq 0,05$ y las tendencias fueron discutidas cuando $0,05 \leq P \leq 0,10$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Perfil nutricional de las dietas utilizadas

Los resultados del análisis químico de las dietas utilizadas presentaron características típicas de aquellas comúnmente operadas en encierres a corral de Argentina, conteniendo entre 70-75% de grano de maíz (Cuadro 3-1). No se encontraron diferencias para FDN y FDA con respecto a la formulación inicial. Los valores de PB para las dietas 1 y 2 presentaron una leve diferencia con respecto a la formulación teórica: 13,8% y 13,3% vs 14,2% y 12,8% respectivamente.

Cuadro 3-1. Aporte nutricional de las 3 dietas suministradas en el periodo de terminación a corral. Resultados expresados en base seca, excepto materia seca (MS) que se expresó en porcentaje de materia húmeda (%MH).

Analito	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
Período de Engorde, d	**1-10**	**11-17**	**18-108**
Composición nutricional,			
MS, %MH	50,75	60,87	74,26
FDN[1]	31,90	24,50	15,60
FDA[2]	16,50	11,00	6,40
PB[3]	14,20	12,80	12,70

DMS[4]	76,10	80,30	83,9
EM Estimada, Mcal/kg MS[5]	2,75	2,90	3,03

[1] FDN = Fibra Detergente Neutro

[2] FDA = Fibra Detergente Ácido

[3] PB = Proteína Bruta

[4] DMS = Digestibilidad de la Materia Seca. Estimada a partir del contenido de FDA, utilizando la ecuación de Mertens, 2002: % DMS = 88,9 - (%FDA x 0,779)

[5] EM = energía metabolizable estimada como: EM (Mcal/kg MS) = 3,61 x DMS

3.2. Peso vivo y ganancia de peso

El peso inicial fue similar para ambos tratamientos (PV_i = 307,8 kg)(Tabla 3-2). Sin embargo al finalizar el período de adaptación (día 20), el tratamiento M+AM tuvo un impacto positivo en el PV (PV_{d20} + 5,5 kg*; P < 0,001*) y en el ADPV (ADPV +0,168 kg/día; *P = 0,003*).

Aunque en el periodo de terminación los tratamientos no afectaron el ADPV (ADPV = 1,705 kg/día; *P=0,922*) al finalizar el período de engorde (día 108), hubo una tendencia hacia un mayor PV en el tratamiento M+AM (PV_{d108} +4,6 kg; *P=0,095*).

Cuadro 3-2. Efecto de suplementación con AM durante el periodo de adaptación y terminación sobre la evolución del peso vivo (PV) y el aumento diario de peso (ADPV) de novillos en feedlot.

	Tratamientos [1]		**IC 95% Diferencia**	**EED[4]**	***P-valor***
	M	**M + AM[2]**	**M + AM vs M [3]**		
Adaptación (0 - 20d)					
PV_i[5], kg	306,9	308,7	(-0,9; 4,5)	0,9	0,378
PV_{d20}, kg	315,8[a]	321,3[b]	(2,0; 9,1)	1,2	<0,001
ADPV[6], kg/d	0,492[a]	0,661[b]	(0,043; 0,294)	0,307	0,003
Terminación (20 - 108d)					
PV_{d20}[5], kg	315,8	321,3	-	-	-
PV_{d108}, kg	466,4[c]	471,0[d]	(-0,4; 9,7)	1,8	0,095
ADPV[6], kg/d	1,710	1,700	(-0,048; 0,029)	0,015	0,922

[a-b] $P < 0,05$. Filas con promedios de tratamientos con superíndices diferentes se consideran diferencias significativas

[c-d] $P < 0,10$. Filas con promedios de tratamientos con superíndices diferentes se consideran tendencias.

[1] M = Monensina (Rumensin, Elanco)). M + AM = Monensina + Amaferm (Biozyme Inc.).

Intervalo de confianza 95% de la diferencia entre tratamiento M + AM vs M.

[4]EED = Error estándar de la diferencia.

[5]PV = Peso vivo, para d20 y d108 se le aplicó 7% de desbaste sobre la pesada individual para descontar el llenado del tracto digestivo.

[6]ADPV = Aumento diario de peso vivo.

En concordancia con nuestros resultados, Nickles et al. (2017), utilizando una dieta compuesta de 60% silaje de maíz, 15% DDGS, 15% maíz entero y 10% suplemento proteico-vitamínico-mineral en base seca, observaron un efecto positivo lineal en el ADPV del período de recepción cuando incluyeron AM (sin monensina) a 1,5 y 3 g/cabeza/día (0,28 , 0,33 y 0,56 kg/dia para dosis 0, 1,5 y 3 g AM/cabeza/día). Ellos concluyeron que estos hallazgos indicarían que hubo menor estrés metabólico y mayor digestibilidad total de la dieta durante los primeros días con AM. No obstante, en otros estudios cuando utilizaron 3 g de AM/d, no se detectaron diferencias en términos de ADPV analizando todo el ciclo de engorde (Zerby et al., 2011). Nuestro resultado confirma la importancia de un correcto manejo en el período de adaptación y transición de dietas. Este es un período crítico, que termina afectando la posterior performance y calidad de carcasa.

Este impacto observado en la producción podría deberse a un mayor desarrollo de las bacterias utilizadoras del ácido láctico, que reducirían la concentración de ácido láctico a nivel ruminal, disminuyendo así el riesgo de acidosis (Nisbet and Martin, 1990; Waldrip and Martin, 1993; Beharka and Nagaraja, 1998). Mediante su efecto prebiótico, AM estimularía la degradación de la fibra (aumenta entre 12 y 20% la digestibilidad aparente de la FDN, FDA) (Gomez-Alarcon et al., 1990) y la proteína metabolizable (Wiedmeier et al. 1987) por parte de las bacterias del rumen siendo las dietas utilizadas durante la adaptación más ricas en fibras.

Asimismo, se detectaron menos variaciones en consumo voluntario en las interfases de las dietas iniciales, lo que sugeriría que se habrían disminuido los disturbios metabólicos, acidosis subclínicas, que podrían explicar parte de los resultados presentados. Sin embargo, debido a la escala de este ensayo y su enfoque, no fue posible hacer mediciones minuciosas de estos factores.

Debido a su limitante en la necesidad de eficientizar el uso de los corrales dentro del establecimiento comercial, el presente trabajo usó un modelo jerárquico, donde la

unidad experimental fue el corral (cluster, nivel 3), y los dos primeros niveles fueron medidas repetidas dentro de los novillos (150 novillos), como ya se explicó anteriormente. Utilizando un enfoque de efectos fijos en el corral y la corrección por Kenward-Roger se logró estimar los errores estándar apropiadamente para un número de cluster pequeño (Ferron et al. 2009). Habiendo dicho esto, es importante destacar los niveles de significancia obtenidos en las mediciones presentadas, teniendo en cuenta el número de unidades experimentales dentro de cada tratamiento y las variabilidades que se observan en la performance cuando se estudian este tipo de aditivos.

3.3. Consumo de alimento e Índice de Conversión

Los tratamientos no afectaron el CMS para las 3 dietas analizadas (Dieta 1 del d0 al d10, P = 0,976; Dieta 2 del d11 al d17, *P = 0,194*; y Dieta 3 del d18 al d108, *P = 0,172*) (Cuadro 3.3). En el periodo de transición de la dieta 2, a pesar de observarse un aumento numérico de 0,76 kg MS/d (8,5%) en el tratamiento M+AM, esto no se evidenció en el análisis estadístico. Asimismo, en términos de IC no se hallaron diferencias entre ambos tratamientos (IC= 7,49 kg MS/kg PV; *P=0,589*).

Como se mencionó anteriormente, el dato diario de CMS es limitado, dadas las condiciones y el enfoque del estudio el análisis de IC tendría menor validez estadística siendo la misma de nivel informativa.

Cuadro 3-3. Efecto de suplementación con AM en consumo de materia seca (CMS) y eficiencia alimenticia (Índice de Conversión, IC) de novillos en feedlot.

	Tratamientos		**IC 95% Diferencia**	**EED[4]**	***P-valor***
	M	**M + AM[2]**	**M + AM vs M [3]**		
CMS[5], kg MS / d					
Dieta 1, d1 - d10	8,16	8,14	(-1,32; 1,29)	0,53	0,976
Dieta 2, d11 - d17	8,83	9,59	(-0,50; 2,02)	0,53	0,194
Dieta 3, d18 – d108	10,73	11,26	(-0,25; 1,31)	0,37	0,172
IC[6], kg MS / kg PV					
Engorde, d1-d108	7,38	7,61	(-0,75; 1,20)	0,40	0,589

[a-b] *Superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P* < 0,05)

[c-d] $P < 0,10$, Filas con promedios de tratamientos con superíndices diferentes se consideran tendencias.

[1] M = Monensina (Rumensin, Elanco Animal Health). M + AM = Monensina + Amaferm (Biozyme Inc.).

[3] Intervalo de confianza 95% como la diferencia de media de mínimos cuadrados de los tratamientos: Monensina +Amaferm y Monensina.

[4] EED = Error estándar de la diferencia.

[5] CMS = Consumo de materia seca.

[6] IC = Índice de Conversión.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Podverisch et al. (2021), quienes evaluaron el efecto de la adición de AM en dos dietas de recría (Base silaje de sorgo vs Subproductos de base pulpa de cítrico; sin monesina en ambos tratamientos) para vaquillonas, donde no hallaron diferencias en el CMS por la adición de AM en ninguna de las dietas. Sin embargo, reportaron un aumento en la digestibilidad de la FDN (14%) y FDA (12,6%) en la dieta a base de sorgo cuando se incluyó AM, avalando trabajos de autores anteriores que explican este impacto por los cambios en el ambiente ruminal y la población microbiana (Wiedmeier et al., 1987; Beharka et al., 1991; Varel and Kreikemeier 1994; Yoon and Stern, 1996). Por el contrario los mismos autores hallaron una reducción en la digestibilidad de la FDN (9,8%) y FDA (10%) cuando se incluyó AM en la dieta a base de subproductos de pulpa de cítricos. Cuando evaluaron la eficiencia de conversión (relación kg producidos/kg alimento suministrado, siendo la inversa del IC), Podversich et al. (2021) encontraron mejoras del 15% por la adición de AM en la dieta a base de subproductos, mientras que en la dieta basada en sorgo no se observaron diferencias.

No obstante, Zerby et al. (2011), en un trabajo realizado con novillos en terminación contrastaron el efecto de la inclusión de AM para dos métodos de procesamiento del grano de maíz (maíz húmedo vs maíz entero seco), incluyéndolo a razón de 76% en base seca. Los autores observaron una mejora del 7,2% con la inclusión de AM en la dieta a base de maíz entero (0,194 vs. 0,208 kg/kg para las dietas de control y Amaferm, respectivamente), no así cuando se lo incluyó en la dieta con maíz húmedo.

Pereyra Yraola et al. (2021, datos no publicados) incluyeron AM (sin monensina) a razón de 4 gramos/cabeza durante los primeros 10 días de adaptación, donde se obtuvo como resultado un aumento significativo en el CMS durante la dieta de transición y los primeros 7 días de la dieta de terminación.

Este impacto se entiende debido a los cambios que sufre el animal, donde la densidad energética de la dieta va en aumento y los niveles de ingesta de proteína suelen ser limitantes a causa de la re movilización que sufre el animal en este periodo de estrés.

Precisamente, algunos autores señalan la importancia de la inclusión de AM en esta etapa dando a lugar a un desempeño superior en el periodo de engorde (Nickles y Relling, 2017).

Con el objetivo de entender los cambios que ocurren a nivel ruminal, resultaría interesante en futuros proyectos hacer un enfoque en la cinética de digestión del almidón y niveles de pH en dietas con alto contenido de grano en adaptación en feedlot. Wesvig et al. (1991), en un ensayo en el cual utilizaron novillos canulados para evaluar el efecto de la suplementación con/sin cebada y con/sin AM en una dieta a base de rollo de pradera *ad libitum*. Los autores observaron diferencias en el pH ruminal a la hora 1 y las 24 horas post alimentación (6,36 vs 6,47 y 6,28 vs 6,46, para Control vs AM respectivamente). Asimismo, hallaron una tendencia a las 9 horas post suplementación a favor de AM (5,73 vs 5,97 respectivamente). La importancia de la adición con AM se puede dar teniendo en cuenta la estabilidad a nivel del pH ruminal dentro de los rangos óptimos.

3.4. Efecto en calidad y crecimiento de carcasa

En lo referido al mérito de la carcasa al final del período de recepción, el AOB (54,56 cm^2) y la GD (4,2 mm) fueron similares entre los tratamientos (Cuadro 3.4). Al final de la prueba, AM aumentó la ganancia mensual de área de ojo de bife (+0,54 cm^2/mes; *P = 0,016*) y tendió a aumentar el AOB final (+ 1,39 cm^2; *P = 0,101*) y la ganancia mensual de EGD (+0,11 mm/mes; P = 0,069), sin afectar las variables de carcasa de EGD (10,6 mm), peso caliente de la carcasa (273,5 kg), Yield Grade (2,88) y marbling (5,01) (Cuadro 3.4).

Cuadro 3-4. Efecto de suplementación con AM durante todo el ciclo de engorde en crecimiento y calidad de carcasa de novillos en feedlot.

	Tratamientos		IC 95% Diferencia	EED[4]	*P-valor*
	M	M + AM[2]	M + AM vs M [3]		
Mérito de carcasa					
AOB[5] inicial, cm^2 20d	54,61	54,50	(-1,45; 1,21)	0,65	0,996
AOB final, cm^2 108d	71,27[c]	72,66[d]	(-0,17; 2,96)	0,66	0,101
AM[6] AOB, cm^2/mes	5,95[a]	6,49[b]	(0,10; 0,98)	0,69	0,016
EGD[7] inicial 12[a] costilla, mm	4,21	4,18	(0-.19; 0,13)	0,06	0,962
EGD final 12[a] costilla, mm	10,51	10,77	(-0.19; 0,70)	0,18	0,473
AM[8] EGD 12[a] costilla, mm/mes	2,25[c]	2,36[d]	(0,01; 0,23)	0,14	0,069
PCC[9], kg	273,1	274	(-1,3; 3,0)	4,8	0,447
USDA YG[10] estimado	2,91	2,85	(-0,13; 0,02)	0,08	0,155
Marbling, %	4,99	5,04	(-0,03; 0,13)	0,09	0,237

[a-b] $P < 0,05$, Filas con promedios de tratamientos con superíndices diferentes se consideran diferencias significativas

[c-d] $P < 0,10$, Filas con promedios de tratamientos con superíndices diferentes se consideran tendencias

[1] M = Monensina (Rumensin, Elanco Animal Health). M + AM = Monensina + Amaferm (Biozyme Inc., St Joseph, MO)

[2] Amaferm fue suplementado para lograr el objetivo de 2 gramos $novillo^{-1}$ dia^{-1}.

[3] Intervalo de confianza 95% como la diferencia de media de mínimos cuadrados de los tratamientos: Monensina +Amaferm y Monensina.

[4] EED = Error estándar de la diferencia.

[5] AOB = Área ojo de bife (Área del Longissimus dorsi).

[6] AM AOB = Aumento mensual del área ojo de bife.

[7] EGD = Espesor de grasa dorsal.

[8] AM EGD = Aumento mensual del espesor de grasa dorsal.

[9] PCC = Peso caliente de la carcasa.

[10] USDA YG = USDA Yield Grade, calculado a partir de la regresión (USDA, 1997).

Hasta donde conocemos este es el primer trabajo que reporta datos de impacto positivo en la calidad de carcasa con el uso de prebióticos como AM. En contraste, Zerby et al. (2011) no encontraron diferencias en AOB, EGD, PCC y USDA YG. Los resultados sugerirían evaluar el efecto de la combinación de los aditivos que repercutieron en aumentos del AOB, contrariamente a los resultados presentados por Zerby et al.

El impacto obtenido en el crecimiento del AOB durante la etapa de engorde sugeriría la importancia de lograr buenas ganancias de peso en el periodo de adaptación. Ipharraguerre (2019) planteó que hay evidencias indirectas en rumiantes sobre la existencia de una relación causal entre la disfunción intestinal y varias (fisio)patologías asociadas a enfermedades entéricas y trastornos metabólicos que sufren los bovinos. Dichos trastornos metabólicos son aquellos que ocurren durante el periodo de adaptación en un encierre a corral, donde a nivel intestinal ocurre un proceso inflamatorio que se dispara a nivel local que, de no ser resuelto de forma rápida y efectiva (tolerancia inmune), genera hiperpermeabilidad epitelial. Como resultado de dicho proceso fisiopatológico pude conllevar desregulaciones inmunometabólicas y/o enfermedades que afectan el intestino (enfermedades inflamatorias intestinales) u otros órganos (tejido adiposo, hígado, pulmones, etc.) (Ipharraguerre, 2019). Se podría hipotetizar la existencia de una relación entre la salud intestinal en el periodo de transición y el aumento del AOB posteriormente en el ciclo de engorde a razón de una mejora en la funcionalidad del mismo en combinación con posibles aumentos de la producción de propiónico en combinación con monensina.

4. CONCLUSIÓN

La utilización de AM a razón de 2 gramos por cabeza por día, en conjunto con monensina durante todo el ciclo de engorde tuvo un impacto positivo en la respuesta productiva durante su adaptación, mostrando como efecto residual mejoras en la tasa crecimiento del AOB y el EGD durante la terminación.

A pesar de haber un aumento en el peso vivo y en el área ojo de bife al final del ciclo, no se hallaron diferencias en el peso de la carcasa. Existe la necesidad de estudiar y entender el impacto que podría generar la inclusión de AM en la regulación del microbioma intestinal y además su efecto sobre el sistema inmune. El resultado de este aditivo en la salud intestinal, podría parcial o totalmente suplir el uso de antibióticos a efectos curativos.

5. IMPLICANCIAS Y RECOMENDACIONES PARA FUTUROS ESTUDIOS

Los estudios futuros pueden considerar la inclusión de AM únicamente el período de adaptación, evaluando la performance durante todo el ciclo y la calidad de carcasa a la faena. Este trabajo podría dar respuesta a la importancia que pudo tener la inclusión de AM durante la transición de dietas, mejorando la estabilidad a nivel ruminal y disminuyendo los disturbios metabólicos. Un punto importante para destacar es que la hacienda utilizada durante el ensayo provenía de campos de recría de la misma firma, siendo el estatus sanitario y manejo previo conocidos. Sería útil evaluar el impacto en hacienda de invernada proveniente de otros orígenes con sanidad y manejo previo desconocidos, entendiendo que el nivel de estrés percibido suele ser mayor que el de una hacienda manejada por un mismo productor durante todo el ciclo del animal.

Declaración de conflicto de interés. Sin conflicto potencial de interés informado por F.P.Y., otro que el hecho de que Biozyme Inc. proporcionó parte del financiamiento para esta investigación; F.B. es investigador de la FIL e I.R.I es investigador de Universidad de Kiel. Siendo, a su vez, ambos consultores de BioZyme Inc.

6. BIBLIOGRAFÍA

AACC, International. Method 32-10.01. Crude fiber in flours, feeds, and feedstuffs. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.

AACC, International. Method 44-16.01. Moisture-air-oven (aluminum-plate) method. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.

AACC, International. Method 46-12.01. Crude protein-Kjeldahl method, boric acid modification. En Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Aprobado 1995. AACC International, St.Paul, MN, USA.

Ankom. 2005. Subject: Neutral Degerteng Fiber in Feeds. Filter bags technique (ANKOM200). Accessed 9/5/2007, 2007.

Aslan, V., S.M. Thamsborg, R.J. Jorgensen, A. Basse. 1995. Induced acute ruminal acidosis in goats treated with yeast (Saccharomyces cerevisiae) and bicarbonate. Acta Vet. Scand. 36, 65–77.

Barton, M.D., 2000. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. Nutr. Res. Rev. 13, 279–299.

Benchaar, C., S. Calsamiglia, A.V. Chaves, G.R. Fraser, D. Colombatto, T.A. McAllister, K.A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology. Volume 145, Issues 1–4, Pages 209-228, ISSN 0377-8401. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014.

Beharka A. A., and T. G. Nagaraja. 1993. Effect of Aspergillus oryzae fermentation extract (Amaferm) on in vitro fiber degrada- tion. J. Dairy Sci. 76:812–818.

Beharka, A. A., and T. G. Nagaraja. 1998. Effect of Aspergillus oryzae extract alone or in combination with antimicrobial com- pounds on ruminal bacteria. J. Dairy Sci. 81:1591–1598.

Britton, R., R. Stock. 1989. Acidosis: a continual problem in cattle fed high grain diets. In: Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Cornell University, Ithaca, NY, pp. 9–15.

Caton, J.S., D.O. Erickson, D.A. Carey, and D.L. Ulmer. 1993. Influence of Aspergillus oryzae fermentation extract on forage intake, site of digestion, in situ

degradability, and duodenal amino acid flow in steers grazing cool-season pasture. J. Anim. Sci. 71:779.

CFR, 2006. Code of Federal Regulations, Title 21, part 558: New animal drugs for use in animal feeds. U. S. Government printing office, Washington DC.

Chalupa, W. 1979. Chemical control of rumen microbial metabolism. In: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. In: Ruck- ebusch, Y., Thivend, P. (Eds.), Proc. Fifth International Symposium on Ruminant Physiology. Clermont-Ferrand, pp. 325–347.

Chang J. S., E. M. Harper, and R. E. Calza. 1999. Fermentation extract effects on the morphology and metabolism of the rumen fungus Neocallimastix frontalis EB188. J. Appl. Microbiol. 86; 389 – 398. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00673.x

Chow J. M., J. A. S. Van Kessel, J. B. Russell, Binding of radiolabeled monensin and lasalocid to ruminal microorganisms and feed, Journal of Animal Science, Volume 72, Issue 6, June 1994, Pages 1630–1635, https://doi.org/10.2527/1994.7261630x

DiCostanzo, A., J. M. Cassady, C. M. Zehnder, 1996. Utilization of approved feed additives in growing, finishing and replacement beef cattle diets. 57th Minnesota Nutrition Conference and Protiva Technical Symposium, Bloomington, Minnesota, pp. 81–96.

Drouillard, J. S. 2018. Current situation and future trends for beef production in the United States of America-A review. Asian-Australas J Anim Sci. 31:1007–1016. doi:10.5713/ajas.18.0428. Available from: https://doi.org/10.5713/ajas.18.0428

Ferron, J. M., B. A. Bell, M. R. Hess, G. Rendina-Gobioff, & S. T. Hibbard. (2009). Making treatment effect inferences from multiple-baseline data: The utility of multilevel modeling approaches. Behavior Research Methods, 41(2), 372-384.

Firkins J.L., M.L. Eastridge, N.R. St-Pierre, S.M. Noftsger, Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle, Journal of Animal Science, Volume 79, Issue suppl_E, 2001, Pages E218–E238, https://doi.org/10.2527/jas2001.79E-SupplE218x

Frumholtz, P., C. Newbold, and R. Wallace. 1989. Effect of Aspergillus oryzae fermentation extract (Amaferm) on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). Proceedings of the British Society of Animal Production (1972), 1989, 159-159. DOI:10.1017/S0308229600011491

Gibson, G. R., R. Hutkins, M. E. Sanders, S. L. Prescott, R. A. Reimer, S. J. Salminen, K. Scott, C. Stanton, K. S. Swanson, P. D. Cani, K. Verbeke, and G. Reid. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 14(8), 491–502. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75

Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analisys. Agric. Handbook No 379. ARS, USDA.

Gómez-Alarcon R. A., C. Dudas, and J. T. Huber. 1990. Influence of cultures of Aspergillus oryzae on rumen and total tract digestibility of dietary components. J. Anim. Sci. 73; 703 – 710. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(90)78723-1

Gómez-Alarcon R. A., J. T. Huber, G. E. Higginbotham, F. Wiersma, D. Ammon, and B. Taylor. 1991. Influence of feeding Aspergillus oryzae fermentation extract on the milk yields, eating patterns, and body temperatures of lactating cows. J. Anim Sci. 69; 1733– 1740.

González, L. A., X. Manteca, S. Calsamiglia, K. S. Schwartzkopf-Genswein, and A. Ferret. 2012. Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). Anim. Feed Sci. Technol. 172:66–79. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.009. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.009

Goodrich, R. D., J. E. Garrett, D. R. Gast, M. A. Kirick, D. A. Larson, J. C. Meiske, 1984. Influence of monensin on the performance of cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1497.

Goulart, R. S., Alencar, M. M. D., Pott, E. B., Cruz, G. M. D., Tullio, R. R., Alleoni, G. F. and Lanna, D. P. D. (2008). Composição corporal e exigências líquidas de proteína e energia de bovinos de quatro grupos genéticos terminados em confinamento. Revista Brasileira de Zootecnia, 37(5), 926-935. DOI: dx.doi.org/10.1590/S1516- 35982008000500022.

Ipharraguerre, I.R. 2019. Mas allá del rumen - la relación entre la disfunción intestinal, inmunidad, y metabolismo en bovinos. Ponencia C 2019. ANEMBE.

Jouany, J. P., and D. P. Morgavi. 2007. Use of “natural” products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. Animal. 1:1443–1466. DOI:10.1017/S1751731107000742.

Kan, C. A., Jager, L.P., Grommers, F. J., 1998. Feed additives: do they add to animal welfare? An evaluation. Anim. Welf. 7, 397–414

Lee, K., Z. L. Brumme. 2013.. Operationalizing the One Health approach: the global 20.

Loerch, S. C., and F. L. Fluharty. 1999. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. J. Anim. Sci. 77:1113–1119. doi:10.2527/1999.7751113x.

Marshall, B. M., and S. B. Levy. 2011. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. Clinical Microbiology Reviews, 24(4), 718–733. DOI:10.1128/cmr.00002-11

Martin, S. A., and D. J. Nisbet. 1990. Effects of Aspergillus oryzae fermentation extract on fermentation of amino acids, bermudagrass and starch by mixed ruminal microorganisms in vitro. J. Anim. Sci. 68:2142–2149. doi:10.2527/1990.6872142x.

McDougall S., L. Young and F. M. Anniss. 2004. Production and health of pasture-fed dairy cattle following oral treatment with the ionophore lasalocid. Journal of Dairy Science 87, 2967–2976.

McGuffey, R.K., L.F. Richardson, J. I. D. Wilkinson. 2001. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. J. Dairy Sci. 84 (E. Suppl.), E194–E203.

Melendez P., J.P. Goff, C.A. Risco, L. F. Archbald, R. C. Littell and G.A. Donovan. 2006. Effect of administration of a controlled-release monensin capsule on incidence of calving-related disorders, fertility, and milk yield in dairy cows. American Journal of Veterinary Research 67, 537–543.

Morris, F. E., M. E. Branine, M. L. Galyean, M. E. Hubbert, A. S. Freeman, G. P. Lofgreen. 1990. Effect of rotating monensin plus tylosin and lasalocid on performance, ruminal fermentation, and site and extent of digestion in feedlot cattle. J. Anim. Sci. 68, 3069–3078

Nagaraja, T. G., M. M. Chengappa, 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: a review. J. Anim. Sci. 76, 287–298.

Nagaraja, T. G., E. C.Titgemeyer, 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. J. Dairy Sci. 90, E17–E38.

NASEM, 2016. Nutrient requirements of beef cattle, 8th ed. Washington (DC):The National Academics Press.

Nickles, K., and A. Relling. 2017. Effect of increasing amount of Amaferm on animal performance in receiving feedlot cattle. J. Anim. Sci. 95:185–185. doi:10.2527/asasmw.2017.383.

Nisbet, D. J., and S. A. Martin. 1990. Effect of dicarboxylic acids and Aspergillus oryzae fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium Selenamonas ruminantium. Appl. Environ. Microbiol. 56:3515–3518.

Nocek, J.E., 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. J. Dairy Sci. 80, 1005–1028.

Odongo, N., R. Bagg, G. Vessie, P. Dick, M. Or-Rashid, S. Hook, J. Gray, E. Kebreab, J. France, and B. McBride. 2007. Long-term effects of feeding monensin on methane production in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 90:1781-1788. doi.org/10.3168/jds.2006-708

Owens, F.N., J. Zorrilla-Ríos, P. Dubeski. 1991. Effects of ionophores on metabolism, growth, body composition and meat quality. In: Pearson, A.M., Dutson, T.R. (Eds.), Growth Regulation in Farm Animals: Advances in Meat Research, vol. 7. ELSEVIER Applied Science, London, pp. 321–342.

Owens, F.N., D.S. Secrist, , W.J. Hill, D.R. Gill , 1998. Acidosis in cattle: a review. J. Anim. Sci. 76, 275–286.

Plaizier, J.C., D.O. Krause, G.N. Gozho, B.W. McBride , 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. Vet. J. 176, 21–31.

Podversich F., F. Tarnonsky, J. Bollatti, G. Medeiros da Silva, T.M. Schulmeister, J. Vargas Martinez, D.C. Heredia, I.R. Ipharraguerre, J.C.B. Dubeux, L. Ferrareto, A.M.M. Gonella-Diaza, R. Chebel, N. Di Lorenzo, 327 Effects of Inclusion of Amaferm on Animal Performance, Chewing Activity, and Nutrient Digestibility of Backgrounding Beef Heifers Fed Either a Sorghum Silage- or a Byproducts-based Diet, Journal of Animal Science, Volume 99, Issue Supplement_3, November 2021, Pages 181–182, https://doi.org/10.1093/jas/skab235.329

Pritchard R. H. , K. W. Bruns, Controlling variation in feed intake through bunk management, Journal of Animal Science, Volume 81, Issue 14_suppl_2, February 2003, Pages E133–E138, https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E133x

Russell, J. B.; A. J. Houlian. 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. FEMS Microbiology Reviews, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 65-74, 2003.

Russell, J. B. and H. J. Strobel. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Applied and environmental microbiology, 55(1), 1.

Salim, H. M., K. S. Huque, K. M. Kamaruddin, and M. A. H. Beg. 2018. Global restriction of using antibiotic growth promoters and alternative strategies in poultry production. Sci. Prog. 101:52–75. DOI:10.3184/003685018X15173975498947.

SAS Institute. 2014. SAS/STAT® 9.4. User's Guide Release. Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.

Stock, R.A., S.B. Laudert, W.W. Stroup , E.M. Larson, J.C. Parrott, R.A. Britton. 1995. Effect of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. J. Anim. Sci. 73, 39–44.

Sun H., Y. Wu, Y. Wang, C. Wang, and J. Liu. 2017. Effects of addition of Aspergillus oryzae culture and 2-hydroxyl-4-(methylthio) butanoic acid on milk performance and rumen fermentation of dairy cows. Anim. Sci. J. 88 (4); 602 – 609. DOI: 10.1111/asj.12646

Tang, K. L., N. P. Caffrey, D. B. Nóbrega, S. C. Cork, P. E. Ronksley, H. W. Barkema, A. J. Polachek, H. Ganshorn, N. Sharma, J. D. Kellner, and W. A. Ghali. 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. Lancet Planet. Heal. 1:e316–e327. DOI:10.1016/S2542-5196(17)30141-9.

Uchida, H., S. Arakida, T. Sakamoto, H. Kawasaki. 2006. Expression of Aspergillus oryzae phytase gene in Aspergillus oryzae RIB40 niaD−. Journal of Bioscience and Bioengineering, Volume 102, Issue 6, 2006, Pages 564-567, ISSN 1389-1723,

Varel, V. H. and K. K. Kreikemeier.1994. Response to various amounts of Aspergillus oryzae fermentation extract on ruminal metabolism in cattle. Journal ofDairy Science 77, 3081–3086.

Van Vugt, C. 2005. Impact of monensin on methane production and performance of cows fed forage diets. Proc.-New Zealand Soc. Anim. Prod. 65: 362-366.

Vogel, G. 1995. The effect of ionophores on feed intake by feedlot cattle. In: Owens, F.N. (Ed.), Symposium: Intake by Feedlot Cattle. Oklahoma State Univ., pp. 281–288. p-942.

Waldrip, H. M., and S. A. Martin. 1993. Effect of an Aspergillus oryzae fermentation extract and other factors on lactate utilization by the ruminal bacterium Megasphaera elsdenii. J. Anim. Sci. 71:2770–2776.

Weidmeier. R. D., M. J. Arambel., and J. L. Walters. 1987. Effect of yeast culture and Aspergillus oryzae. fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70:2063.

Westvig, R. M., J. S. Caton, and D. 0. Erickson. 1991. Influence ofAspergillus oryzae fermentation extract (Amaferm) and barleysupplementation on in situ nutrient degradabiiity and ruminalpH in steers fed low-quality hay. Proc. West. Sect. Am. SOC.Anim. Sci. 42:247

Williams, R. J. and D.L. Heymann. 1998. BIOMEDICINE: Containment of Antibiotic Resistance. Science, 279(5354), 1153–1154. doi:10.1126/science.279.5354.1153

Yoon, I. K., and M. D. Stern. 1996. Effect of Saccharomyces cerevi- siae and Aspergillus oryzae cultures on ruminal fermentation in dairy cows. J. Dairy Sci. 79:411–417.

Zerby, H. N., J. L. Bard, S. C. Loerch, P. S. Kuber, A. E. Radunz, and F. L. Fluharty. 2011. Effects of diet and Aspergillus oryzae extract or saccharomyces cerevisiae on growth and carcass characteristics of lambs and steers fed to meet requirements of natural markets. J. Anim. Sci. 89:2257–2264. doi:10.2527/jas.2010-3308.

Zunino, P. 2018. Historia y perspectivas del enfoque “Una Salud” History and perspectives of “One Health” approach. Vet. 54:46–51. DOI:10.29155/VET.54.210.8.