

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio de Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

“Efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de digestión de tracto total, fermentación ruminal, respuesta productiva, eficiencia energética, características de la canal y masa visceral de ovinos finalizados en condiciones climáticas sub-tropicales”

**Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

MC. Octavio Zapata Ramírez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alfredo Estrada Angulo

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

ASESORES:

Dra. Beatriz Isabel Castro Perez

Dr. Jesus David Urias Estrada

Dr. Francisco Gerardo Rios Rincon

Culiacán, Sinaloa, México, a noviembre de 2021

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **OCTAVIO ZAPATA RAMÍREZ**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR



DIRECTOR

DR. ALFREDO ESTRADA ANGULO



CO-DIRECTOR

DR. ALEJANDRO PLASCENCIA JORQUERA



ASESOR

DRA. BEATRIZ ISABEL CASTRO PÉREZ



ASESOR

DR. JESÚS DAVID URÍAS ESTRADA



ASESOR

DR. FRANCISCO GERARDO RÍOS RINCÓN



Culiacán, Sinaloa, México, a noviembre de 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 18 de noviembre del año 2021, el que suscribe Octavio Zapata Ramirez, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 1759453-7, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Alfredo Estrada Angulo y del Dr. Alejandro Plascencia Jorquera y que cede los derechos del trabajo titulado “*Efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de digestión de tracto total, fermentación ruminal, respuesta productiva, eficiencia energética, características de la canal y masa visceral de ovinos finalizados en condiciones climáticas sub-tropicales*”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

MC. Octavio Zapata Ramirez

DOMICILIO: Calle de la lechuguilla #3637, Fraccionamiento San Benito, Culiacan, Sinaloa.
TELÉFONO: 4981065682 CORREO ELECTRÓNICO: octaviozapata1092@outlook.com
CURP: ZARO920810HZSPMC03

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	V
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.2.1 Situación mundial y nacional de la ovinocultura.....	3
1.2.2 Aditivos utilizados en la alimentación de rumiantes.....	5
1.2.2.1 Enzimas.....	7
1.2.2.2 Aceites esenciales.....	12
1.2.2.3 Probióticos.....	15
1.2.2.4 Prebióticos.....	26
1.2.2.5 Sinbióticos.....	35
1.3 CONCLUSIÓN.....	38
CAPÍTULO 2. ARTÍCULO 1. Effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation, ruminal bacteria and total tract digestion in lambs...	39
2.1 Abstract.....	40
2.2 Introduction.....	41
2.3 Material and methods.....	42
2.3.1 Animals, diets, sampling and samples analyses.....	42
2.3.2 Identification and ruminal concentration of bacteria <i>C.</i> <i>aminophilum</i> and <i>C. sticklandii</i> DNA extraction.....	44
2.3.3 Statistical design and analyses.....	46
2.4 Results.....	46
2.5 Discussion.....	47
2.6 Conclusions.....	49

2.7 Conflict of interest statements.....	49
2.8 References.....	49
CAPÍTULO 3. ARTÍCULO 2. The effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on growth performance, dietary energetics, carcass traits, and visceral mass in lambs finished under subtropical climate conditions.....	60
3.1 Simple summary.....	61
3.2 Abstract.....	61
3.3 Introduction.....	62
3.4 Materials and methods.....	63
3.4.1 Experimental location.....	63
3.4.2 Weather measurement and temperature humidity index (THI) estimation.....	63
3.4.3 Animals, diets, and sample analyses.....	63
3.4.4 Calculations.....	65
3.4.5 Carcass characteristics, whole cuts, and shoulder tissue composition.....	66
3.4.6 Visceral mass data.....	66
3.4.7 Statistical analyses.....	67
3.5 Results.....	67
3.6 Discussion.....	68
3.7 Conclusion.....	71
3.8 Author contributions.....	72
3.9 References.....	73
CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES.....	85
CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA.....	86

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Consumo, digestibilidad y comportamiento productivo de ovinos Awassi suplementados con y sin enzima celulasa.....	11
2	Principales microorganismos vivos utilizados en rumiantes como probióticos.....	17
3	Respuesta de CMS, GDP y digestibilidad de MS, FDN y FAD en cabras con estrés calórico suplementadas con probióticos.....	24
4	Comportamiento productivo de toros en etapa de finalización suplementados con levadura autolizada.....	32
5	Comportamiento productivo y características de la canal de toros en etapa de finalización suplementados con levadura autolizada.....	33
6	Efecto de la suplementación de distintas dosis de MOS en la ganancia diaria de peso de ovinos.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Mecanismo de acción de los probióticos en el intestino.....	19
2	Mecanismo de acción de los probióticos en rumen.....	22

RESUMEN

“Efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de digestión de tracto total, fermentación ruminal, respuesta productiva, eficiencia energética, características de la canal y masa visceral de ovinos finalizados en condiciones climáticas sub-tropicales”

MC. Octavio Zapata Ramirez

Se desarrollaron dos experimentos para evaluar los efectos de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de fermentación ruminal, digestión del tracto total (DDT), respuesta productiva, eficiencia energética, características de la canal y masa visceral de ovinos finalizados en condiciones climáticas sub-tropicales. En el primer experimento se utilizaron cuatro ovinos machos (Dorper; 45.1 ± 2.7 PVI) habilitados con cánulas tipo “T” en rumen, en un diseño de Cuadrado Latino 4x4. Los tratamientos consistieron en una dieta a base de maíz quebrado adicionada con: 1) Sin eubióticos (Testigo), 2) 3 g *Saccharomyces cerevisiae*/ovino/día (2×10^{10} cfu/g/día, SC), 3) 3 g de mannan-oligosacáridos (30% w/w) y β -glucanos (20% w/w) /ovino/día (MOS) y 4) 1.5 g/ovino/día de SC más 1.5 g/ovino/día de MOS (un total de 3 g/ovino/día) (SC+MOS). Comparado con el grupo Testigo, al suplementar SC hubo una tendencia ($P=0.09$) a incrementar la DTT de MS y MO, así mismo, aumentó ($P<0.05$) la DTT de N, Almidón y la ED de la dieta. En tanto a la DTT de FDN no se presentaron diferencias ($P=0.61$) entre el Testigo y SC. Los ovinos suplementados con MOS mostraron una mayor DTT de FDN (+7.9%, $P<0.01$), además de una tendencia a mejorar la digestión de N ($P=0.07$) y ED ($P=0.07$). El grupo que recibió el tratamiento SC+MOS incrementó ($P \leq 0.03$) la DTT en todas las variables evaluadas, aumentando (4.2%, $P<0.01$) la ED de la dieta. Aunque, los ovinos que recibieron el tratamiento MOS mostraron una mejor digestión de FDN (+6.7%, $P=0.02$) que el tratamiento SC, la DTT para MS, MO, N, Almidón y ED fueron similares entre ambos tratamientos ($P \geq 0.24$). Comparando SC o MOS con SC+MOS, este último tuvo un mejor resultado ($P<0.05$) en la DTT para N y FDN. La suplementación de MOS y SC+MOS presentaron una tendencia ($P=0.09$), a aumentar los valores de pH en comparación al grupo Testigo. SC+MOS disminuyó ($P \leq 0.03$) la proporción molar de butirato y N-NH₃, esto es consistente con la disminución en la concentración de C.

aminophilium. La suplementación de eubióticos en dietas altas en energía para ovinos en etapa de finalización, mejora la DTT y ED de la dieta. La reducción de bacterias hiper productoras de amoniaco puede contribuir a mejorar la retención de Nitrógeno. La combinación de probióticos (SC) y prebióticos (MOS) potencia los efectos positivos de la digestión y la fermentación ruminal en ovinos alimentados con una dieta alta en energía. En el segundo experimento se desarrolló una prueba con duración de 93 días, donde se evaluó el efecto de la suplementación de eubióticos (probióticos, prebióticos y su combinación) en la respuesta del comportamiento productivo y características de la canal en ovinos finalizados en condiciones climáticas subtropicales. Para este experimento se utilizaron 40 ovinos Pelibuey × Katahdin (29.5 ± 4.8 kg de peso vivo inicial). Los tratamientos utilizados fueron similares a los usados en la prueba de digestión de tracto total. Durante la duración del experimento, el indicador de temperatura y humedad (THI por sus siglas en inglés) fue de 78.60. Comparado con el grupo testigo, la suplementación individual de SC o MOS no tuvo efecto en la GDP, pero mejoró 6.3% la eficiencia alimenticia y 5.2% la energía de la dieta. Comparado con el grupo testigo, SC+MOS mejoró la GDP (10%) y la eficiencia alimenticia (9.5%) incrementando la energía de la dieta 7.2%. Los ovinos alimentados con SC+MOS tuvieron una mayor GDP, eficiencia alimenticia y expresaron una mayor energía neta de la dieta comparados con el grupo SC. Cuando se compara MOS con SC+MOS, este último tuvo una GDP mayor (10.4%, $P=0.04$). Este efecto puede ser atribuido al incremento en el CMS (7.6%, $P=0.06$), sin embargo, no se apreciaron diferencias en la eficiencia alimenticia o en el aprovechamiento de la energía de la dieta. Comparando el grupo Testigo y el grupo SC, con el grupo MOS y SC+MOS, estos últimos dos incrementó la grasa de riñones, pelvis y corazón, mientras SC presentó una tendencia ($P=0.08$) a reducir 4.1% la masa intestinal (como proporción del cuerpo vacío). No hubo efectos de los tratamientos en las demás variables medidas. La suplementación de eubióticos puede mejorar la eficiencia energética de la dieta en ovinos finalizados en condiciones climáticas sub-tropicales. La combinación de un probiótico y un prebiótico puede potenciar sus efectos individuales.

Palabras clave: Eubioticos, digestión, fermentación, comportamiento productivo, canal, ovinos.

ABSTRACT

“Effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on characteristics of ruminal fermentation, total tract digestion, growth performance, dietary energetics, carcass traits and visceral mass in lambs finished under subtropical climate conditions”

MC.Octavio Zapata Ramirez

Two experiments were developed to evaluate the effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation, total tract digestion, growth performance, dietary energetics, carcass traits and visceral mass in lambs finished under subtropical climate conditions. For the first trial four male lambs (Dorper; 45.1 ± 2.7 kg initial weight) with “T” cannulas in the rumen were used in a 4×4 Latin square experiment to evaluate the effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation and total tract digestion. Dietary treatments consisted of a cracked corn-based basal finishing diet supplemented with: 1) no eubiotics (Control); 2) 3 g of live *Saccharomyces cerevisiae* /lamb/day (2×10^{10} cfu/g, SC), 3) 3 g of mannan oligosaccharide (30 % w/w) plus β -glucans (20 % w/w) /lamb/day (MOS), and 4) combination of 1.5 g/day SC and 1.5 g/day MOS (SCMOS). Compared to controls, SC supplementation tended ($P = 0.09$) to increase total tract digestion of DM and OM, and increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N, starch, and digestible energy (DE). Compared with Control, MOS increased total tract NDF (7.9%, $P < 0.01$), and tended to improve total tract digestion of N ($P = 0.07$), and DE diet ($P = 0.07$). Compared to Control, SC+MOS increased ($P \leq 0.03$) total tract digestion of all fractions evaluated, including a 4.2% ($P < 0.01$) increase in DE. Although lambs fed MOS had greater (6.7%, $P = 0.02$) NDF digestion than those fed SC, differences in total tract digestion of DM, OM, N, starch and DE diet were not appreciable ($P \geq 0.24$). Compared with SC and MOS fed separately, SC+MOS increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N and NDF. Supplemental MOS and SC+MOS tended ($P = 0.09$) to promote greater ruminal pH than the Control. Combining supplementation decreased ($P \leq 0.03$) the molar proportion of butyrate and ruminal ammonia, consistent with decreased of ruminal concentration of *C. aminophilum*. Probiotic/prebiotic

supplementation of high-energy lamb finishing diets enhances total tract digestion and digestible energy. Reduction hyper-ammonia producing ruminal bacteria with the combination probiotic plus prebiotic may contribute to improved dietary N economy. The combination of probiotics with prebiotics potentiate positive effects on digestion and ruminal fermentation in lambs fed a high-energy diets. The second trial were performed using Pelibuey × Katahdin lambs (29.5±4.8 kg initial live weight) in a 93-d growth-performance experiment. Dietary treatments were the same as the digestion trial. Throughout the study, the average temperature humidity index (THI) was 78.60. Compared to Controls, supplementation with SC or MOS, alone, did not affect average daily gain (ADG), but enhanced 6.3% feed efficiency (gain-to-feed ratio, G: F) and 5.2% dietary net energy. Compared to Controls, SC+MOS enhanced both ADG (10%) and G: F (9.5%), increasing 7.2% dietary net energy. Lambs fed SC+MOS had greater ADG, G: F, and dietary net energy compared to lambs fed SC alone. When compared to MOS, the combination enhanced ADG (10.4%, $p = 0.04$). This effect was due to an increased dry matter intake (7.6%, $p = 0.06$), as neither G: F nor dietary energy were appreciably affected. Compared with Control and SC, supplementation with MOS alone and SC+MOS increased kidney-pelvic-heart fat, while SC supplementation tended ($p = 0.08$) to reduce 4.1% the relative intestinal mass (as a proportion of empty body weight). Treatment effects on the other carcass measures were not significant. Supplemental eubiotics may improve dietary energetic efficiency in lambs finished under subtropical climate conditions. The combination of probiotic and prebiotic can potentiate this effect.

Keywords: Eubiotics, digestion, fermentation, growth performance, carcass, lambs

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 INTRODUCCIÓN

El uso de aditivos alimenticios en rumiantes, sin importar su etapa de producción o función zootécnica, se ha convertido en una práctica cotidiana en los sistemas de producción, ya que su uso ha permitido alcanzar distintos propósitos, entre ellos: ha mejorado el comportamiento productivo, algunos rasgos de salud y bienestar animal (López-Valencia *et al.*, 2017), además, se han logrado modificar ciertas características de calidad de la carne que podrían favorecer su comercialización (Ornaghi *et al.*, 2020). Sin embargo, debido a los posibles efectos que conllevan el uso de algunos aditivos antibióticos promotores del crecimiento, sobre la salud del animal, el medio ambiente y el consumidor, además de las regulaciones cada vez más estrictas y los cambios en los patrones globales de consumo (He *et al.*, 2020), han generando que los responsables de la investigación y producción pecuaria pongan a prueba diferentes opciones de aditivos de origen natural o clasificados como alternativos, los cuales, puedan mantener los niveles de producción actual y no comprometan en ninguno de los tres aspectos antes mencionados.

Dentro de los aditivos que cumplen con las características antes mencionadas, el grupo de probióticos y prebióticos representa una alternativa viable para que paulatinamente se pueda aminorar el uso de promotores del crecimiento de origen químico u hormonal, esto, sin disminuir los actuales indicadores de producción, aunado a ello, es que son productos que han sido usados por años en la producción de alimentos y hasta la fecha mantienen una percepción aceptable por productores y consumidores (Newbold, 1996). Otro aspecto que hay que considerar es, que su uso está aprobado por la Autoridad Europea de Alimentos Saludables (EFSA, European Food Safety Authority) (Gibson *et al.*, 2017) y tienen el estatus de Generalmente Reconocidos como Seguros (“GRAS Generally Recognized as Safe”) otorgado por USDA (Ghazanfar *et al.*, 2017). El uso de estos aditivos es una práctica común desde hace tiempo, ya que existen registros de su uso hace más de 40 años (Streeter *et al.*, 1981). Se ha indicado que actualmente en Norte América cerca del 60% del total de

engordas de ganado bovino utiliza como aditivo alimenticio algún tipo de eubiótico (Samuelson *et al.*, 2016).

Entre los principales beneficios de este tipo de aditivos, se han observado aumentos en el consumo de materia seca, mayor digestibilidad de forrajes fibrosos, aminoran los efectos negativos del estrés calórico, y por consecuencia, mayores ganancias de peso o mayor producción de leche, estabiliza el pH ruminal y producen una considerable reducción en la incidencia de enfermedades metabólicas durante el periodo de reciba en engorda, lactación temprana de terneros y vacas productoras de leche, (Chaucheyras-Duran *et al.*, 2012; López-Soto *et al.*, 2013; Drouillard, 2018). Una característica que debe ser mencionada como ventaja de estos aditivos, es su costo accesible o menor en comparación con otros aditivos de uso común en los sistemas productivos, como el caso de los ionóforos (Ghazanfar *et al.*, 2017). Actualmente la tecnología ha permitido conocer más de su correcto funcionamiento basándose en estudios genómicos donde se describen de mejor manera sus mecanismos de acción; se han perfeccionado los métodos para su obtención, ha mejorado la selección de cepas, variedades y dosis más específicas que han ayudando a estandarizar su respuesta; además, existen resultados donde se ha descrito que los mecanismos de acción de probióticos y prebióticos siguen rutas totalmente diferentes con objetivos hasta cierto punto similares, por lo cual, su uso en conjunto puede desarrollar efectos sinérgicos aumentando sus efectos positivos (Uyeno *et al.*, 2015; Radzikowski, 2017; López-Valencia *et al.*, 2017). Debido a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la suplementación de probióticos y prebióticos de manera individual o combinada sobre las características de digestión de tracto total, fermentación ruminal, respuesta productiva, eficiencia energética y características de la canal de ovinos en finalización.

1.2 REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1 Situación mundial y nacional de la ovinocultura

La cantidad mundial aproximada de bovinos es de 1,494 millones, 1,006 millones de cabras y 1,173 millones de ovinos, estos animales también conocidos como rumiantes, son una de las principales fuentes de proteína de origen animal, la cual se obtiene de sus productos como la leche y carne, además, proveen pieles y fibras que son utilizadas como textiles (Hegde, 2019). Continentalmente, Asia alberga la mayor cantidad de ovinos en el planeta, 512 millones (43.6%), le siguen África con 352 millones (30.0%), Europa 131 millones (11.2%), Oceanía 95 millones (8.1%) y América 84 millones (7.1%) (Mazinani y Rude, 2020). De acuerdo con datos obtenidos por FAOSTAT (2021), los países con el mayor número son China (156 millones), Australia (71 millones), India (67 millones), Sudán (52 millones), Irán (42 millones), Nigeria (41 millones), Reino Unido (33 millones), Nueva Zelanda (29 millones) y Pakistán (29 millones).

El ritmo de expansión de todos los sectores cárnicos se ha visto afectado negativamente a causa del COVID-19, esto, en gran medida por una posible reducción del consumo mundial de carne, en concordancia con las expectativas de recesiones económicas generalizadas. La producción mundial de carne en 2020 descendió 333 millones de toneladas, 1.7% menor que en 2019, no obstante, se espera un moderado aumento en la producción de carne de ovino, a pesar de que su precio fue el más afectado a nivel global de acuerdo con el índice de precios de la carne de la FAO (2020). Mundialmente se produjeron 16.2 millones de toneladas de carne de ovino, 0.9% más que en 2019, esto, gracias a aumentos en Asia y África, a pesar de las disminuciones productivas en Oceanía y Europa. Del total mencionado, solo 981 mil toneladas se comercializaron entre países, ya que la demanda internacional se vio disminuida a causa de una baja en el consumo y el alza a costos de los insumos, además, Australia quien por décadas fue el principal exportador contrajo su mercado 13%, ya que en años anteriores destinó gran parte de su inventario al sacrificio disminuyendo su pie de cría (FAOSTAT, 2021). China se colocó como el principal productor de carne ovina

aportando el 30% del total mundial, lo anterior, debido al impulso otorgado a sus pequeños productores. Así mismo, Nueva Zelanda, Estados Unidos y la Unión Europea aumentaron considerablemente sus exportaciones. Los principales importadores fueron: China y Emiratos Árabes Unidos (FAO, 2021). El consumo de carne de ovino es el cuarto más importante después de la carne de cerdo, pollo y res, la ingesta *per cápita* estimada es de 1.7 kg/persona/año, el rango entre países es muy variable ya que en Oceanía consumen 17 kg/persona/año mientras en Norteamérica solo alcanza 0.7 kg/persona/año (OCDE, 2021).

La población total de ovinos en México es de 8.7 millones, los estados que destacan en su producción son: Estado de México (1.3 millones), Hidalgo (1.1 millones), Veracruz (708 mil), Puebla (547 mil) y Zacatecas (509 mil), el estado de Sinaloa cuenta con una población de 168 mil cabezas (SIAP, 2020). En México el consumo de carne de ovino es de 0.6 kg/persona/año, y ha mantenido una tasa de crecimiento anual (TCA) de 1.2% en los últimos 5 años, la producción total en 2019 fue de 64 mil toneladas de carne teniendo una TCA de 1.9%, mientras el consumo total fue de 73.6 mil toneladas, reflejando esto, un déficit de más de 10 mil toneladas de carne de ovino anualmente (COMECARNE, 2020). Una de las causas de este déficit puede ser atribuida al modelo de producción adoptado en el país, el cual consiste en la producción extensiva, donde las ganancias de peso son bajas (110-160 g/día) (González-Garduño *et al.*, 2013) en comparación con las obtenidas en sistemas intensivos (270-290 g/día) (Estrada-Angulo *et al.*, 2017).

La mayor parte de la carne de ovino se obtiene de ganado criollo o cruzado, solo una pequeña parte corresponde a razas puras. El volumen de producción cárnico por estados fue el siguiente: Estado de México (9.2 mil toneladas), Hidalgo (6.7 mil toneladas), Veracruz (5.4 mil toneladas), Jalisco (4.5 mil toneladas), Puebla (4.4 mil toneladas) y Zacatecas (4.2 mil toneladas). La producción ovina aporta un 0.3% del total de la producción pecuaria nacional (Atlas Agroalimentario, 2020).

1.2.2 Aditivos utilizados en la alimentación de rumiantes

La producción de proteína de origen animal proveniente de los rumiantes ocupa un lugar importante en la alimentación humana. De acuerdo con la FAO (2009) la población humana aumentará 30% para el año 2050 y necesitará 70% más alimento que el producido en la actualidad, esto se reflejará en un incremento en la demanda de alimentos de origen animal (carne, leche huevo, pescado) (Al-Jaf y Del, 2019); en las últimas décadas, se ha logrado incrementar la producción de alimentos de origen animal utilizando sustancias de origen vegetal y fúngico o compuestos químicos conocidos comúnmente como aditivos alimenticios promotores del crecimiento.

En términos generales, un aditivo alimentario se refiere a un producto incluido en la ración, el cual no aporta nutrientes *per se* y tiene como propósito mejorar la eficiencia de la producción, modificando alguna de las siguientes características: fermentación/absorción, digestión, metabolismo celular (Hutjens, 1991; Plascencia, 2015), e incluso mejorar el estado inmunológico del animal (Hulbert y Moisés, 2016), manteniendo el equilibrio entre producción y explotación del medio ambiente (Michalack *et al.*, 2021). Las NOM-025-ZOO-1995 y NOM-061-ZOO-1999 definen el término Aditivo como sigue: cualquier material de uso específico que se incluya en el alimento, que favorezca su presentación, preservación, así como la ingestión, aprovechamiento, profilaxis o pigmentación en los animales y sus productos.

Una de las primeras clasificaciones para los aditivos alimentarios, fue la propuesta por Stock y Mader (1985), quienes los dividieron en cinco grupos: 1) Ionóforos, 2) Antibióticos, 3) Supresores de Estros, 4) Amortiguadores y 5) Otros. Recientemente Pandey *et al.* (2019), clasifica a los aditivos de dos maneras; 1) de acuerdo con las Regulaciones de la Comisión Europea y 2) Basado en un enfoque holístico. Ambas clasificaciones se describen a continuación:

-Basado en las Regulaciones de la Comisión Europea:

a) Aditivos sensoriales: aditivos que mejoran la palatabilidad de los alimentos y buscan aumentar el consumo voluntario de materia seca mediante el estímulo del apetito.

b) Aditivos nutricionales: proveen algún nutriente específico, por ejemplo, vitaminas, aminoácidos, minerales traza, etc.

c) Aditivos Zootécnicos: estos aditivos buscan mejorar el aprovechamiento de los nutrientes y la producción del ganado, un ejemplo de ellos son las levaduras o enzimas.

d) Coccidiostatos e Histomonostatos: utilizados para el control de los parásitos que provocan dicha enfermedad, no están clasificados como antibióticos.

e) Aditivos tecnológicos: estos aditivos actúan modificando algunos aspectos tecnológicos de los alimentos, no alteran el valor nutricional de los alimentos, pero pueden mejorar el manejo de los mismos o su higiene. Un ejemplo de este grupo son los ácidos orgánicos.

-Basados en un enfoque holístico (Consejo de investigación Agrícola de la India):

a) Aditivos que modifican la estabilidad de los alimentos, su procesamiento y algunas propiedades de estos. P.e. Antifúngicos, antioxidantes, aglutinante para peletizado.

b) Aditivos que modifican el crecimiento animal, eficiencia alimenticia metabolismo y comportamiento productivo. P.e. Saborizantes; modificadores de la digestión: enzimas, eubióticos, búfers, acidificantes, ionóforos, isoácidos, agentes defaunantes, inductores de la salivación; modificadores del metabolismo: hormonas y β -agonistas; promotores del crecimiento: antibióticos, agentes quimioterapéuticos probióticos y prebióticos.

c) Aditivos modificadores de la salud animal. P.e. medicinas e inmunomoduladores.

d) Aditivos que modifican la aceptación del consumidor. P.e. xantofilas.

De acuerdo con Samuelson *et al.* (2016), el suplementar aditivos es una práctica común en los sistemas de engorda intensiva de ganado, en Norte América el 77.3% de las engordas de ganado bovino utiliza monensina, 92.3% la utilizan en la etapa inicial y 97% en la etapa de finalización. Así mismo, 84.8% utilizan algún tipo de β -agonista, sin embargo, debido al reciente veto sobre el uso de clorhidrato de zilpaterol en los Estados Unidos, 95% de las engordas de bovinos utilizan ractopamina, mientras en México, el 100% de las unidades de producción que finalizan rumiantes utilizan clorhidrato de zilpaterol. El uso de antibióticos como aureomicina continúa siendo popular entre las explotaciones, 41.1% lo utiliza en la fase inicial de la engorda de bovinos y 8.41% en la etapa de finalización, clortetraciclina tiene 15.8% de uso en

dietas para reciba y 3.33% en dietas de finalización. Los animales con una elevada tasa de crecimiento necesitan aprovechar al máximo los nutrientes de las dietas y mantener un nivel elevado de salud, así, el uso de estos aditivos es una herramienta para lograr dicho objetivo (Pandey *et al.*, 2019).

No obstante, cambios en el patrón de consumo global, el incremento de las regulaciones comerciales, recientes restricciones gubernamentales, así como la prohibición del uso de promotores del crecimiento y antimicrobianos en las dietas para animales en la Unión Europea y los Estados Unidos (Shurson, 2018), han aplicado una fuerte presión para encaminar a la ganadería hacia el concepto “Limpio, Verde y Ético” (CGE por sus siglas en inglés), en dicho concepto, “limpio” significa un uso reducido de sustancias químicas sintéticas (antibióticos, hormonas, etc.) y apoya particularmente la idea de reducir la resistencia a los antibióticos, mientras que “verde” hace referencia a la reducción del impacto ambiental negativo y “ético” se refiere a buscar mejoras en el bienestar animal (Stevanovic *et al.*, 2018).

El objetivo anterior se ha logrado paulatinamente con el uso de aditivos alternativos o nutracéuticos; dichos aditivos pueden tener efectos farmacéuticos y/o metabólicos que presenten beneficios en la salud del ganado y el comportamiento productivo (Núñez-Benitez *et al.*, 2021). Algunos ejemplos que han mostrado resultados positivos son: enzimas, metabolitos secundarios de las plantas, probióticos, prebióticos y sinbióticos entre otros (Pandey *et al.*, 2019).

1.2.2.1 Uso de enzimas en la alimentación animal

De acuerdo con Real Academia de la Lengua Española, define la palabra enzima de la siguiente manera: proteínas que actúan como catalizadores de las reacciones bioquímicas del metabolismo, las cuales, pueden ser suplementadas como aditivos alimenticios a manera de enzimas exógenas, es decir, aquellas que no pertenecen al sistema digestivo del animal, pero se pueden agregar al alimento con la finalidad de mejorar la degradación de los alimentos durante los procesos de digestión (Rojo-Rubio *et al.*, 2007).

El uso de enzimas en la alimentación animal ha tomado popularidad ya que la biomasa de las plantas puede representar una fuente de energía aprovechable, sin embargo, su uso es limitado debido a la dificultad de hidrolizar sus polisacáridos estructurales en azúcares de fácil digestión (Sharma y Kumar, 2013). La mayoría de las enzimas son de origen microbiano, producidas por las bacterias: *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus stearothermophilus*; algunos hongos: *Trichoderma longibrachiatum*, *Asperigillus oryzae* y *Asperigillus niger* y levaduras como *Sacchoromyces cerevisiae* (Valdivia *et al.*, 2019).

Una gran cantidad de enzimas son utilizadas para mejorar la síntesis de polisacáridos, principalmente fitasas en especies de no rumiantes (Al-jaf y Del, 2019), así mismo existe una gran variedad de enzimas utilizadas en rumiantes: enzimas fibrolíticas, amilolíticas y proteolíticas (Sujani y Sereshime, 2015), además de algunos productos enzimáticos secundarios como las celulasas, xylanasas, amilasas, proteasas, estearasas o pectinasas (Meale *et al.*, 2014). Su inclusión favorece la degradación de alimentos fibrosos (López-Soto *et al.*, 2006), la disponibilidad de nutrientes como el almidón, compuestos nitrogenados y minerales, la respuesta obtenida es generalmente constante pero su eficiencia se asocia con factores como el tipo de enzima utilizada, características de la dieta y algunas condiciones experimentales (Beauchemin *et al.*, 2003). En la etapa de finalización de rumiantes su uso no es muy popular ya que las dietas son bajas en fibra (Balci *et al.*, 2007) y los microorganismos ruminales son los principales productores de enzimas, en cambio, cuando se utilizan dietas a base de forrajes se ha demostrado que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas aumenta la cantidad de microorganismos degradadores de fibra incrementando la biodisponibilidad de nutrientes y su digestibilidad, además de ayudar a eliminar algunos factores antinutricionales (Velázquez de Lucio *et al.*, 2021).

Mecanismo de acción de las enzimas

La manera en que actúa cada enzima es diferente e interdependiente, los mecanismos de acción propuestos incluyen la hidrólisis y solubilización parcial de la fibra previo a ser consumida (Beauchemin *et al.*, 2003), lo cual, ayuda a liberar azúcares

rápidamente fermentables (glucosa, celobiosa o celooligosacáridos) para los microorganismos ruminales acortando el tiempo de colonización microbiana sobre el sustrato (Forsberg *et al.*, 2000), además de un mejoramiento sinérgico de la actividad enzimática de bacterias ruminales (Salem *et al.*, 2013). Esto favorece la disminución del tamaño de partícula y el tiempo de retención ruminal de la fibra mejorando además el consumo voluntario (López-Soto *et al.*, 2006).

La enzima xilanasa cataliza la hidrólisis de los enlaces 1-4 β -D-xilosídicos en xilanos que son constituyentes de la hemicelulosa. El grupo de las enzimas xilanolíticas incluyendo endo 1-4-D- xilanasa, actúa sobre la cadena principal de xilanos, estos a su vez hidrolizan los xilo-oligosacáridos en D-xilosa (Sujani y Sereshime, 2015), además, de una variedad de enzimas desramificantes, por ejemplo: L-arabino furanosidasa que hidroliza las cadenas laterales de arabinosa, α -glucuronidasas que remueve las cadenas laterales de ácido glucurónico a las unidades de xilosil, xilan esterases que libera el grupo acetato y finalmente las β xilosidasa que hidroliza xilobiosa a xilosa (Sharma y Kumar, 2013).

El almidón es la principal fuente de energía en la engorda de ganado bovino, su digestión y aprovechamiento son los factores más importantes, los cuales, determinan la respuesta productiva en la etapa de finalización (DiLorenzo *et al.*, 2010). El uso de enzimas amilolíticas ha demostrado que pueden incrementar su tasa de degradación (Rojo *et al.*, 2005). Dobrevá *et al.* (1994), utilizando amilasas obtenidas de *Bacillus licheniformis* en condiciones *in vitro*, observaron que estas actúan por difusión en los gránulos de almidón bajo condiciones de pH 4 a 9 y temperatura de 30-90 °C, condiciones similares que se presentan en el rumen. Las amilasas obtenidas de estos microorganismos son de tipo exoamilasas y endo-amilasas, actúan por difusión a través del gránulo del almidón e hidrolizan las células de la aleurona inmersas en el ectodermo que es donde se alberga el almidón. Estas amilasas actúan en el grupo final no reductor del polímero de amilasa o amilopectina, específicamente en los enlaces α -1-4 o α -1-6 glucosídicos, y producen polisacáridos de alto peso molecular, pentosas, maltotriosas, maltosas y glucosas (Rojo-Rubio *et al.*, 2007).

Uso de enzimas en la alimentación de rumiantes

Los forrajes obtenidos de la producción de granos son una fuente importante de alimentos para el mantenimiento de los rumiantes, sin embargo, el valor nutritivo de ellos es muy bajo en comparación con cereales o granos, esto debido a su elevado contenido de fibra y lignina (Muwalla *et al.*, 2007).

En un meta-análisis realizado por Tirado-González *et al.* (2017), sobre el efecto del uso de enzimas fibrolíticas en la alimentación de rumiantes obtuvieron los siguientes resultados: en vacas lecheras alimentadas con dietas bajas en forrajes (F:C <50%) las enzimas no tuvieron efecto en la producción de leche y cantidad de sólidos totales, por el contrario, en dietas con elevada proporción de forraje (F:C ≥50%) aumentó la producción de leche (+1.96 kg/d), proteína (+99.44 g/d) y grasa (83 g/d). En ambos tipos de dieta la adición de enzimas disminuyó el CMS. En bovinos productores de carne se incrementó la GDP 0.30 kg/d cuando se alimentaron con dietas que contenían un porcentaje mayor a 50% de forraje; en dietas con baja proporción de fibra mejoró en 1.03% en la conversión alimenticia, lo cual no demuestra una correlación positiva entre GDP y CA al suplementar enzimas fibrolíticas.

Muwalla *et al.* (2007), utilizaron dos tratamientos en 30 ovinos (15 por tratamiento) raza Awassi (PVI 20.4±3.0kg) alimentados durante 60 días con una dieta de 1.05 Mcal/kg de ENg, para evaluar el efecto de la suplementación de una enzima fibrolítica en la digestión de nutrientes y comportamiento productivo, obteniendo los siguientes resultados: el consumo y la digestibilidad de las fracciones de MO, PC, FDN y Energía Metabolizable, así como el peso vivo final, GDP y conversión alimenticia fueron similares ($P>0.05$) para ambos tratamientos (Cuadro 1). Los autores concluyen que la suplementación de enzimas fibrolíticas bajo las condiciones desarrolladas en el experimento no tienen efectos en las variables evaluadas.

Cuadro 1. Consumo, digestibilidad y comportamiento productivo de ovinos Awassi suplementados con y sin enzima celulasa.

	Dietas		EEM
	Testigo	Enzima Celulasa	
Consumo (g/d)			
Materia Seca	1075	1081	46
Materia Orgánica	939	944	40
Proteína Cruda	171	172	7.4
Fibra Detergente Neutro	280	282	15.6
Energía Metabolizable (Mcal/d)	2.87	2.88	0.1
Digestibilidad (%)			
Materia Seca	64.5	65.2	0.5
Materia Orgánica	67.5	66.4	0.5
Proteína Cruda	65.9	65.5	0.9
Fibra Detergente Neutro	61.2	59.9	1.1
Comportamiento Productivo			
Peso Inicial (kg)	20.6	20.4	0.9
Peso Final (kg)	33.7	34.0	0.8
Ganancia Diaria de Peso (g/día)	219	225	13.5
CA	5.4	5.4	0.2
E. E. M= Error Estándar de la media		(Muwalla <i>et al.</i> , 2007)	

De acuerdo con Mendoza-Martínez y Ricalde-Velasco (2017), el uso de enzimas amilolíticas termoestables de organismos tienen una capacidad de 100 a 200 veces mayor que los del rumen, este tipo de enzimas han mostrado mayor eficiencia al utilizar los nutrientes e incrementado la ganancia de peso, no obstante, los resultados no fueron los esperados en relación a la digestibilidad observada en el rumen, ya que al aumentar la digestibilidad del almidón provocaron episodios de acidosis ruminal subclínica, por lo cual, la alternativa al utilizar enzimas amilolíticas, es reducir el nivel

de inclusión del grano en 5.0% buscando mantener un comportamiento productivo favorable.

Otra manera eficiente de su utilización es agregarlas a los alimentos directamente previo a ser consumidos por los animales, ya que esto ayuda a la liberación de carbohidratos y a la solubilización parcial de fibra lo cual permite un mejor acceso de las bacterias ruminales a las paredes celulares y protege a las enzimas de la proteólisis en rumen (Beauchemin *et al.*, 2003).

1.2.2.2 Aceites esenciales

Se cree que el término “Aceite Esencial” se remonta al siglo XVI y fue propuesto por Paracelso, quien nombró “Esencial” al componente efectivo del fármaco quinta (citado por Nehme *et al.*, 2021). Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas, componentes volátiles responsables de dar la esencia y el color característico a cada especie (Benchaar *et al.*, 2008), pueden extraerse mediante destilación por vapor o extracción con solvente (Benchaar *et al.*, 2007), químicamente son monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅) y diterpenos (C₂₀) (Chaves *et al.*, 2008), están compuestos por mezclas de entre 20 a 60 combinaciones de terpenoides, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y etér que son extraídos de plantas aromáticas como el romero, canela, clavo, orégano, salvia, timol, menta y ajo (Caroprese *et al.*, 2020), dichos extractos se han posicionado recientemente como una de las principales alternativas para disminuir el uso de aditivos tradicionales en las explotaciones pecuarias (Torres *et al.*, 2020).

A pesar de la poca información existente es conocido que estos extractos poseen efectos anti-inflamatorios, anti-oxidantes y anti-microbianos, además, favorecen la inmunidad de los animales y pueden mejorar algunas características de digestión y fermentación ruminal (incrementa el uso de las proteínas, reduce la producción de amoníaco y metano, aumenta la producción de AGV's y mejora la proporción acetato:propionato), beneficiando el comportamiento productivo (Akram *et al.*, 2021).

Mecanismo de acción de los aceites esenciales

El efecto de los aceites esenciales en animales de producción ha dado resultados muy variables, atribuidos entre otras cosas al clima, la especie animal, edad, mezcla de compuestos, dosis, periodo de administración y métodos de extracción, por lo que es difícil describir del todo su mecanismo de acción (Torres *et al.*, 2020). Su mecanismo de acción sobre algunas bacterias (Gram positivas en su mayoría) se debe a la naturaleza hidrofóbica del ciclo de los carbonos, lo cual favorece la interacción con las membranas, característica que les permite penetrar la bicapa lipídica ocupando un espacio entre las cadenas de ácidos grasos alterando la presión osmótica (Calsamiglia *et al.*, 2007), interrumpiendo la integridad de la membrana y el transporte de iones, esto resulta en la fuga de contenido celular vital causando su muerte. En síntesis, la rápida disipación de las fuentes motrices de protones (iones H y K) y el agotamiento de la reserva intercelular de ATP se observan a través de la disminución de su producción y el aumento de la hidrólisis (Akram *et al.*, 2021).

La respuesta obtenida en el metabolismo del nitrógeno se debe a un impacto mediático en la producción de bacterias hiperproductoras de amoníaco, ya que su reducción disminuye la desaminación de aminoácidos y la producción de amoníaco, cabe mencionar que este efecto solo se ha observado cuando se administran altas dosis de aceites esenciales, lo cual puede provocar una disminución en la producción total de AGV's (Benchaar *et al.*, 2008).

De acuerdo con Nehme *et al.* (2021), el efecto anti-inflamatorio se debe a la interacción de los aceites esenciales con las citocinas de señalización, los factores de transcripción reguladores y la expresión de genes pro-inflamatorios, el mecanismo de acción puede ser directo en una reacción inmuno-estimuladora a través de algunos mecanismos tales como:

-Hiperemia: acelera el reclutamiento de leucocitos, favoreciendo las reacciones anti-inflamatorias (citral, citronelal y cuminal)

-Bloqueo de la síntesis y secreción de mediadores de la inflamación (histamina, citocinas pro-inflamatorias, prostaglandinas, leucotrienos, óxido nítrico, radicales libres) actuando así a diferentes niveles de actividad anti-inflamatoria.

Uso de aceites esenciales en la alimentación de rumiantes

Latack *et al.* (2021), evaluaron la interacción de una mezcla estandarizada de aceites esenciales (EO) y monensina sódica (MON) en las características ruminales, digestión de tracto total y comportamiento productivo de toretes Holstein. En su estudio utilizaron cuatro tratamientos en un arreglo factorial, dos niveles de EO (0 vs 0.011%) y dos niveles de MON (0 vs 33 mg/kg). Las características de digestión fueron evaluadas en 4 novillos Holstein canulados en rumen y duodeno. La digestión ruminal de MO y N fue mayor en el grupo suplementado únicamente con MON. La digestión ruminal de MO y N fue similar para los tratamientos que recibieron EO y MON individualmente, pero diferente cuando se combinaron ambos tratamientos ($P \leq 0.02$). La suplementación individual de MON mejoró ($P \leq 0.02$) la digestión de tracto total de MO Y N. El experimento del comportamiento productivo duró 216 días y se utilizaron 96 animales. El grupo suplementado con MON mejoró ($P \leq 0.05$) la GDP, CMS, eficiencia alimenticia y EN de la dieta. No obstante, en los animales suplementados con la combinación EO+MON la eficiencia energética y la EN de la dieta no fueron diferentes de los animales no suplementados ($P < 0.10$). Los autores concluyen que la suplementación de monensina incrementa la GDP y el CMS. En tanto la suplementación con aceites esenciales o monensina tuvo como resultado una tendencia a mejorar la conversión alimenticia y el valor estimado de la EN de la dieta. Sin embargo, su combinación presentó efectos asociativos negativos. Por último, manifiestan que los resultados obtenidos en el comportamiento productivo son consistentes con los datos obtenidos en la prueba de digestión.

Estrada-Angulo *et al.* (2021), realizaron dos experimentos para comparar la suplementación de una mezcla de aceites esenciales (EO) o combinados con enzimas (EO+ENZ) en comparación con virginiamicina (VM), en el primer experimento se midieron las características del comportamiento productivo, energética de la dieta y

características de la canal mientras en el segundo experimento se midieron las características correspondientes a la digestión de tracto total a ovinos alimentados con dietas para finalización.

Los corderos se alimentaron con una dieta alta en energía, utilizando uno de los cuatro tratamientos experimentales: 1) Dieta basal sin aditivos (Testigo); 2) 150 mg de Aceites esenciales (EO); 3) 150 mg de aceites esenciales y 560 mg de alfa-amilasa (EO+ENZ) y 4) 25 mg VM. Comparados con el grupo control, la respuesta en el comportamiento productivo para EO y VM fue similar, mejorando (5.7%, $P < 0.05$) la eficiencia alimenticia y la energía observada de la dieta. Comparado con el grupo Testigo, la suplementación con EO+ENZ tuvo una tendencia a incrementar ($P = 0.09$) el CMS (6.8 %), mejorando ($P < 0.05$) la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia (10 y 4.4% respectivamente). El uso de la energía de la dieta fue mayor (2.7%, $P < 0.05$) para EO y VM que para EO+ENZ. El efecto de los tratamientos no fue apreciable en las características de digestión y energía digestible de la dieta. Los autores concluyen que la suplementación de EO puede ser una alternativa para no utilizar VM en dietas concentradas en energía para ovinos en etapa de finalización, mejorando la eficiencia alimenticia y el uso de la energía de la dieta. La combinación de EO+ENZ puede mejorar el CMS promoviendo así la GDP.

1.2.2.3 Probióticos

El término “Probiótico” es definido como: microorganismos vivos que suplementados en cantidades apropiadas puede modificar positivamente el balance microbiano y las funciones gastrointestinales, por lo cual son considerados benéficos para el organismo (Fuller, 1989). Los microorganismos vivos utilizados principalmente en rumiantes incluyen las especies: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* y *Propionibacterium* los cuales también, tienen diversos usos en alimentación humana, de animales monogástricos y en algunos procesos de elaboración de productos lácteos. Otros microorganismos vivos como *Megasphaera elsdenii* y *Prevotella bryantii* se han utilizado también como estabilizadores o para mejorar las funciones ruminales (Drouillard, 2018).

Las bacterias anteriormente mencionadas son clasificadas como bacterias productoras de ácido láctico, utilizadoras de ácido láctico y simplemente como otros microorganismos. Así mismo existe un grupo de microorganismos de origen fúngico conocido como levaduras, principalmente tipos de *Saccharomyces spp* y *Aspergillus spp*, siendo estas últimas dos las de mayor uso por su impacto positivo en la eficiencia alimenticia y algunos rasgos de salud animal (Seo *et al.*, 2010). La composición de sus paredes consiste aproximadamente de 30% a 60% de 1,3/1,6- β -D glucanos, 40% mananoproteínas y 5% quitinas. Las levaduras pueden ser así, una fuente extra de energía para las bacterias del rumen (Miltko *et al.*, 2015).

Existen alrededor de 60 géneros de levaduras, con 500 variedades aproximadamente y se encuentran presentes en la tierra hace 2.4 miles de millones de años (Stone, 2006; Chuang *et al.*, 2020), se clasifican como: microorganismos unicelulares eucariotas, anaerobios facultativos pertenecientes al reino fungi (Bennett, 1998). Las levaduras miden en promedio 0.5-5 μ m (Ghazanfar *et al.*, 2017) y sus paredes celulares están compuestas por α -D-mannanos, quitina y β -glucanos (Elghandour *et al.*, 2019); las bacterias productoras de ácido láctico miden de 3–4 μ m, ambas tienen membrana nuclear y pared celular, ambos tipos se caracterizan por ser heterótrofos que dependen de materiales orgánicos vivos o muertos como fuentes de alimento, obteniendo sus nutrientes y energía gracias a la producción de varias enzimas proteolíticas, glucolíticas o lipolíticas, las cuales hacen posible digerir la materia orgánica, así mismo, pueden absorber aminoácidos o monosacáridos a través de su pared celular (Shurson, 2018). En el cuadro 2 se mencionan los principales microorganismos utilizados en la alimentación de rumiantes como aditivos alimenticios.

Cuadro 2. Principales microorganismos vivos utilizados en rumiantes como probióticos.

Género	Especie
-Bacterias que producen ácido láctico <i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus gallinarum</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> <i>Bifidobacterium thermophilium</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> <i>Streptococcus faecium</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
-Bacterias utilizadoras de ácido láctico	<i>Megasphaera elsdenii</i> <i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Propionibacterium acidipropionici</i> <i>Propionibacterium jensenii</i>
-Otras bacterias <i>Prevotella</i> <i>Bacillus</i>	<i>Prevotella bryantii</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
-Levaduras <i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>
-Fungi <i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>

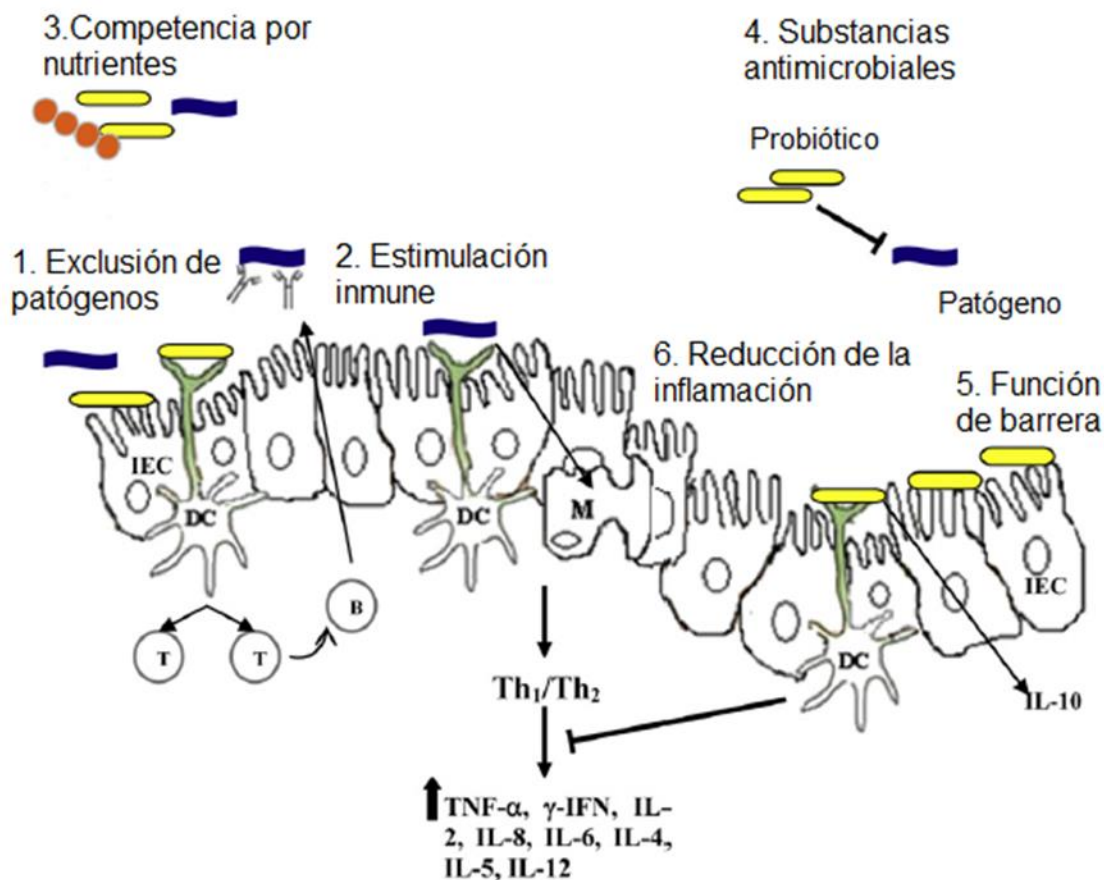
(Seo *et al.*, 2010; Gaggia *et al.*, 2010; Saad *et al.*, 2013; Markowiak y Ślizewska, 2018)

Mecanismo de acción de Probióticos

Los mecanismos de acción de los probióticos son difíciles de generalizar, ya que existe una gran variedad de microorganismos vivos que pueden ser utilizados como tal,

probablemente su mecanismo de acción más conocido sea la competencia contra algunas bacterias patógenas por sustratos orgánicos (principalmente fuentes energéticas) o sitios de adhesión (Michalack *et al.*, 2021), este mecanismo es conocido como principio de exclusión competitiva, el cual, aumenta el número de bacterias no patógenas, mejorando el sistema inmune y la absorción de nutrientes gracias a la protección epitelial (Adhikari y Kim, 2017). Una característica importante de los probióticos es su función como protectores y/o mejoradores de la pared epitelial gastrointestinal, ya que ésta tiene como primera enmienda el proteger al animal de patógenos, toxinas y compuestos químicos que pueden provocar alteraciones en el organismo (Gabel *et al.*, 2002). Este mecanismo se desarrolla al unirse las bacterias productoras de ácido láctico a la pared epitelial para prevenir la colonización de microorganismos patógenos (El-Trwab *et al.*, 2016). Saad *et al.* (2013), en su publicación expresan que los microorganismos se pueden unir primero a los receptores de reconocimiento que se encuentran en la superficie intestinal y desencadenar así la cascada de defensa inmunológica, o bien, pueden ser transportados por células localizadas en el epitelio folicular asociado a las células de Peyer, así también, la captación de antígenos y microorganismos ocurre a través de transporte vesicular transepitelial mediante enterocitos y células M. Además, Se han registrado efectos bactericidas a nivel intestinal, esto se puede explicar ya que los lactobacilos fermentan lactosa a ácido láctico disminuyendo el pH creando niveles intolerantes para algunas bacterias no deseables, también producen peróxido de hidrógeno que inhibe la unión de sustratos a las sub-unidades de reductasa ribonucleótida interviniendo con la síntesis de ADN afectando el crecimiento de bacterias Gram negativas (Timmerman *et al.*, 2004). En el caso específico de *S. cerevisiae* se ha reportado de la secreción de una serina proteasa capaz de hidrolizar toxinas tipo A producidas por *Clostridium difficile* (Castagliulo *et al.*, 1996, citado por Elghandour *et al.*, 2019).

Figura 1. Mecanismo de acción de los probióticos en el intestino.



Algunos mecanismos de probióticos mediante los cuales beneficia al huésped. Los efectos consisten en: 1) Exclusión y competencia contra patógenos, 2) Estimula la inmunidad innata, 3) Competencia por nutrientes, 4) Producción de la integridad intestinal y 6) Regulación de citoquinas anti-inflamatorias e inhibición de citoquinas pro-inflamatorias. IEC: Células epiteliales intestinales, DC: Células dendríticas, IL: Interleucina, M: Células intestinales M.

(Saad *et al.*, 2013)

En el caso de los probióticos del grupo de levaduras, su principal función en rumen es consumir el oxígeno, lo pueden reducir de un 46 hasta un 89% (Cai *et al.*, 2021), sobre todo *Saccharomyces spp* y *Aspergillus spp* (Alayande *et al.*, 2020; Phesatcha *et al.*, 2021) lo cual genera condiciones propias para el desarrollo de bacterias anaerobias estrictas como bifidobacterias en el intestino o en el rumen protozoarios, quienes fermentan almidón de una manera mas lenta que las bacterias amilolíticas, en el caso de bacterias ruminales aumenta el numero de *Megaesphaera elsdenii* o *Selenomonas ruminatum*, estas últimas son utilizadoras de ácido láctico productoras de propionato (Schmidt *et al.*, 2020), ese aumento en la producción de propionato se verá reflejado en un incremento de la producción de glucosa a nivel hepático, por tal razón se han obtenido valores superiores de glucosa en sangre (Bakr *et al.*, 2015).

Ya que la glucosa es la principal fuente de carbono para la síntesis de ácidos grasos mediante los adipocitos intramusculares, se tendrá mayor disponibilidad de energía en general (Bagheri *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2016). Al promover el crecimiento de bacterias productoras de propionato, se previenen problemas metabólicos, tales como: inflamación, laminitis o acidosis; este último disminuye el pH ruminal, lo que indirectamente defauna bacterias degradadoras de fibra, principalmente *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens* (Seo *et al.*, 2010; Chaucheyras-Durand *et al.*, 2012).

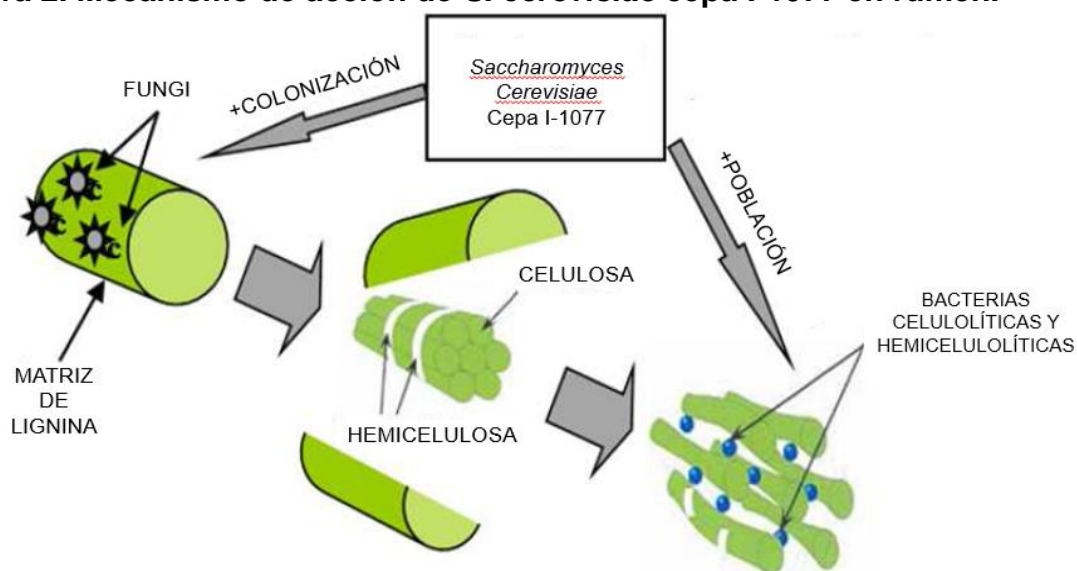
Históricamente la suplementación de levaduras se ha sustentado en sus efectos positivos al mejorar la digestión de FDN (Callaway y Martin, 1997; Khadem *et al.*, 2007; López-Soto *et al.*, 2013), estos efectos se pueden explicar gracias al mantenimiento del pH, la reducción de oxígeno en el medio, además de su aporte de vitaminas del complejo B (Vitamina B6, timina, biotina, riboflavina, ácido nicotínico y ácido pantoténico) (Elghandour *et al.*, 2019; Jonova *et al.*, 2021), esto favorece el crecimiento de bacterias celulolíticas (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, entre otras), protozoarios ciliados (*Diplodinium spp* y *Entodinium caudatum*) y algunos hongos (*Neocallimastix frontalis*) (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2008; Miltko *et al.*, 2015). Como consecuencia al aumento de la degradación ruminal de FDN, tendremos una mayor disponibilidad de precursores lipogénicos, esto se

puede traducir en cambios a la proporción de AGV's principalmente incrementos en la proporción de acetato (Bagheri *et al.*, 2008)

Estas bacterias celulolíticas secretan un número considerable de celulasas, incluyendo exocelulasas y endocelulasas, las cuales mediante un efecto sinérgico degradan la celulosa cristalina a oligosacáridos solubles, estos oligosacáridos son hidrolizados a glucosa mediante celobiosa (El Waziry e Ibrahim., 2007). En el caso específico de *Butyrivibrio fibrisolvens*, Chaucheyras-Durand *et al.* (2012) reportan un efecto positivo en el aumento de esta bacteria al suplementar *S. cerevisiae*, esta bacteria produce estearasas de ácidos ferúlico y p-cumárico, que pueden hidrolizar los enlaces de hemicelulosa, los cuales, están compuestos por xilanos, esto ayuda a explicar los aumentos en la degradación de fibra a nivel ruminal.

Otra función de esta levadura es la descrita por Elghandour *et al.* (2016) y Phesatcha *et al.* (2021), quienes afirman que esta tiene la capacidad de utilizar el H₂ que normalmente sería destinado a el proceso de metanogénesis para llevar a cabo el proceso de acetogénesis, esto mediante bacterias homo acetogénicas, las cuales pueden producir acetato utilizando CO₂ y H₂.

Figura 2. Mecanismo de acción de *S. cerevisiae* cepa I-1077 en rumen.



Adaptado de Chaucheyras-Durand *et al.*, 2012.

Uso de probióticos en la alimentación de rumiantes

Phesatcha *et al.* (2021), realizaron un experimento para evaluar el consumo de materia seca, digestibilidad, microorganismos ruminales y la producción de metano (CH₄) en 16 bovinos raza Thai (115 ± 10 kg de peso vivo), alimentados con paja de arroz tratada con urea utilizando como aditivo alimenticio levadura *Saccaromyces cerevisiae* (DY). Para el desarrollo del experimento utilizaron un diseño de bloques completos al azar y cuatro tratamientos: 1) 0 g/cab/día DY; 2) 1 g/cab/día DY; 3) 2 g/cab/día DY y 4) 3 g/cab/día DY. El consumo de alimento de los animales fue *ad libitum* y se utilizó como base para establecer el consumo inicial una proporción del 0.5% en relación con su peso vivo inicial. Comparado con los animales que no recibieron DY la suplementación con DY en los tratamientos 3 y 4 aumentó el CMS (15 y 26%), la digestibilidad de FDN (6 y 10%) Y FAD (8 y 13%) ($P < 0.05$), sin modificar la digestibilidad de la MS, MO y PC, obteniendo resultados similares entre los 4 tratamientos ($P > 0.05$). Comparado con el tratamiento 1, los tratamientos 3 y 4 aumentaron la cantidad total de AGV's (7 y 11%), mientras los tratamientos 2, 3 y 4 tuvieron un efecto aumentando el ácido propiónico (C3) (8, 15 y 24%) ($P < 0.05$), mientras disminuyó la cantidad de ácido acético (C2) y butírico (C4). La población de protozoarios, así como la producción de Metano (CH₄) disminuyeron (4, 8 y 14%) a medida que aumentó la suplementación de DY. Bacterias como *F. succinogenes* y *R. flavefaciens* aumentaron ($P < 0.05$), mientras que las bacterias metanogénicas se vieron disminuidas en número (13, 29 y 50%) ($P > 0.05$) al suplementar a los animales con algún tratamiento que incluyera DY. La bacteria *R. albus* mantuvo conteos similares entre los cuatro tratamientos ($P > 0.05$). La cantidad de nitrógeno amoniacal en rumen aumentó (28 %) únicamente al suplementar 3 g/ cab/día de DY. Así, los autores del presente experimento concluyen que: la adición de DY a bovinos, incrementa el consumo de materia seca, mejora la fermentación ruminal y aumenta la cantidad de bacterias celulolíticas, disminuyendo las emisiones de gas metano.

El uso eficiente de la energía es un factor que puede ayudar a los animales a disminuir los efectos negativos de la alta carga ambiental (Pontarolo *et al.*, 2021), en este sentido Cai *et al.* (2021), se dieron a la tarea de evaluar la respuesta de la suplementación de

dos diferentes tipos de probióticos de manera individual o combinada (*Saccharomyces cerevisiae* y *Clostridium butyricum*), sobre las características de fermentación ruminal y el comportamiento productivo en cabras en condiciones de estrés calórico. Para el presente experimento se utilizó un diseño de cuadrado latino incompleto 4 x 3 con periodos de 20 días y 12 cabras cruce Macheng Negro x Boer (6 ± 1 meses de edad y 20.21 ± 2.30 kg de peso vivo). Las condiciones de estrés calórico se crearon mediante un generador de aire (frío o caliente) en un cobertizo cerrado, donde se mantuvo una temperatura constante de 33.2 ± 2.7 °C y la humedad fue provocada con apersores de agua, que matuvieron valores constantes de $74.4 \pm 2.3\%$ de humedad. El ITH (indicador de temperatura y humedad por sus siglas en inglés) producido fue de 87.0, valor considerado como de “emergencia” (Mader *et al.*, 2006).

Para este experimento se utilizaron los siguientes tratamientos: 1) Dieta basal sin aditivos (GC); 2) 0.60% de *S. cerevisiae* (2.0×10^{10} CFU/g) más dieta basal (SC); 3) 0.05% de *C. butyricum* (1.0×10^8 CFU/g) más dieta basal (CB) y 4) 0.60% de *S. cerevisiae* más 0.05% de *C. butyricum* (COM). La suplementación de probióticos en los tratamientos SC, CB y COM aumentó significativamente el pH en comparación con el grupo GC ($P < 0.05$). En el caso de NH_3 y AGV's se aumentaron con los tratamientos SC y CB ($P < 0.05$). El CMS, GDP y la digestibilidad de MS, FDN y FAD se incrementaron significativamente en los grupos suplementados con alguno de los probióticos, así como con la suplementación de ambos ($P < 0.05$), los resultados se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Respuesta de CMS, GDP y digestibilidad de MS, FDN y FAD en cabras con estrés calórico suplementadas con probióticos.

Parámetro	Tratamiento				EEM	Valor de p		
	CG	SC	CB	COM		SC	CB	COM
CMS (kg)	0.79 ^a	0.84 ^b	0.87 ^c	0.84 ^b	0.04	0.005	<0.001	<0.001
ADG (kg)	0.08 ^a	0.19 ^b	0.12 ^b	0.12 ^b	0.01	0.040	<0.001	<0.004
Digestibilidad								
MS (%)	50.58 ^a	60.84 ^b	66.46 ^c	65.44 ^b	3.63	0.001	<0.001	<0.001
FDN (%)	38.32 ^a	51.04 ^b	54.13 ^b	52.20 ^b	3.59	<0.001	<0.001	<0.01

FAD (%)	37.82 ^a	50.03 ^b	50.06 ^b	49.29 ^b	3.00	<0.001	<0.001	<0.01
---------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	------	--------	--------	-------

^{a-c} Medias con una literal distinta significan diferencia estadística ($P < 0.05$)

Cai *et al.*, 2021

Los autores concluyen que la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae*, *Clostridium butyricum* y su combinación mejoran las condiciones del rumen favoreciendo la fermentación ruminal, generando una mayor disponibilidad de energía a cabras en condiciones de estrés calórico.

El principal objetivo del uso de aditivos alternativos es garantizar un producto que no disminuya los resultados productivos o modifique negativamente la calidad de las canales producidas. Aldoori y Al-Obadi (2018), compararon los efectos de la suplementación de tres niveles de *S. cerevisiae* con un grupo testigo. Utilizaron 16 ovinos raza Awassi (36 ± 0.34 kg) y cuatro de ellos fueron asignados aleatoriamente a uno de los siguientes tratamientos: T1 (Testigo), T2 (3 g Sc/cab/día), T3 (5 g Sc/cab/día), T4 (7 g Sc/cab/día). La alimentación consistió en paja de trigo a libre acceso y un concentrado ofrecido en relación a 2.5% de su peso vivo. El experimento tuvo una duración de 75 días y se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizado. En sus resultados observaron que no existieron diferencias en el peso al sacrificio, no obstante, el T3 tuvo diferencias significativas ($P < 0.05$) con el T2 en peso de la canal caliente y fría, así mismo, los tratamientos T3 y T4 fueron superiores (8% y 6%; $P < 0.05$) en el rendimiento en canal comparados con el grupo Testigo. Para el rendimiento del cuarto trasero y delantero existieron diferencias numéricas entre los tratamientos T2, T3 y T4 con el grupo Testigo, sin embargo, dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas. La grasa pélvica y de cobertura de los riñones fue menor en los grupos suplementados con *S. cerevisiae* ($P < 0.05$). El T4 tuvo un menor espesor de grasa dorsal en comparación con los demás tratamientos ($P < 0.05$). En el área del ojo de la costilla los resultados fueron diferentes estadísticamente entre todos los tratamientos ($P < 0.05$), comparado con el grupo Testigo los tratamientos T2 y T3 fueron numéricamente menores mientras el T4 fue mayor (4%). Los resultados obtenidos mostraron un aumento numérico en la cantidad de tejido magro ($P > 0.05$).

y una disminución significativa de la cantidad total de grasa en los tratamientos T3 y T4 comparados con el grupo Testigo ($P < 0.05$). La carne de los tratamientos T2 y T4 tuvo un menor contenido de MS y mayor contenido de cenizas que los grupos T1 y T2 ($P < 0.05$).

1.2.2.4 Prebióticos

El término “prebióticos” fue definido por Gibson y Roberfroid (1995), quienes los describen como ingredientes alimenticios no digeribles que afectan positivamente la salud del huésped, estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un determinado número de bacterias. Dicha definición se actualizó con los siguientes conceptos: ingredientes fermentados selectivamente los cuales provocan cambios específicos, en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal lo cual confiere beneficios al bienestar y salud del huésped (Gibson *et al.*, 2004).

Los prebióticos son paredes celulares de levaduras principalmente *S. cerevisiae* de las cuales se obtienen Mannan-oligosacáridos (se extraen usando ácidos, enzimas o solución con alto contenido de sal que facilita la ruptura de las células ya que causa un aumento considerable de la presión osmótica), o mezclas de fructooligosacáridos y polisacáridos (inulin), oligosacáridos indigestibles (como fructanos o galactanos), xilooligosacáridos, lacticol o lactulosa, los cuales consisten en monómeros de 2 a 20 carbohidratos, algunos de ellos son extraídos de algunas fibras de cereales como la soya y la avena (Manning y Gibson, 2004; Gaggia *et al.*, 2010; Saad *et al.*, 2013; Adhikari y Kim, 2017; Markowiak y Śliżewska, 2018; García-Díaz *et al.*, 2018).

Para que estos puedan considerarse como prebióticos, deben de cumplir con las siguientes características: 1) el substrato no debe ser hidrolizado o absorbido en el rumen, estómago o intestino, ni modificado por enzimas gástricas o pancreáticas, 2) debe ser selectivo y/o beneficiar a los grupos de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en el tracto gastrointestinal y 3) la fermentación del sustrato debe inducir efectos sistémicos beneficiosos para el organismo que los ingiere (Samanta *et al.*, 2007; Gaggia *et al.*, 2010).

Un concepto que ayuda al entendimiento de las funciones de los prebióticos es que éstos no pueden ser del todo metabolizados, pero ayudan a alcanzar de una manera más eficiente objetivos fisiológicos. El uso de prebióticos en rumiantes ha sido limitado, sin embargo, es importante considerar que un gran número de oligosacáridos no digestibles se encuentran comúnmente en las paredes celulares de alimentos utilizados para la alimentación de estos (Samanta *et al.*, 2013). En relación con lo anterior, Spring *et al.* (2015), después de revisar los resultados de 733 artículos publicados donde se utilizaron caballos, conejos, cerdos, pollos de engorda, gallinas de postura, rumiantes y algunas especies de pescado, encontraron que su uso reflejó mejoras positivas en ganancia de peso, conversión alimenticia y reducción de la mortalidad. Esto lo atribuyen a la limitación de afecciones por distintos patógenos en el tracto gastrointestinal, ya que mejoraron considerablemente la salud de la mucosa intestinal, ayudaron a modular el sistema inmune y aumentaron la actividad antioxidante en los animales.

Mecanismo de acción de prebióticos

Suzuki *et al.* (1990), sugieren que al suplementar con prebióticos se mejora la respuesta inmune mediante células M, que son células epiteliales especializadas utilizadas para transportar macromoléculas en las células de Peyer, esto resulta en un incremento considerable de citocinas y una mejor respuesta ante una posible infección, gracias al estímulo de la actividad fagocítica y de las células NK. Independientemente del grado en que se absorban los β -glucanos y mannan-oligosacáridos, sus efectos sobre el sistema inmunitario dependen del receptor deptin-1, receptor que se expresa altamente en todas las células inmunes, es decir, células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, monocitos y algunas células T (Volman *et al.*, 2008). Para el caso de rumiantes, los estudios realizados han sido limitados al valorar su respuesta inmune, no obstante, se ha mostrado una mejoría en ganado inmunodeprimido (Shurson, 2018).

Por otra parte, Sanders *et al.* (2019), resumen los beneficios y mecanismos de acción de los prebióticos como sigue: el consumo de dicho aditivo favorece el incremento de

grupos específicos de bacterias, la regulación inmunitaria puede verse influenciada por el aumento de la biomasa y los componentes de la pared celular de la bacteria. Los productos metabólicos incluyen ácidos orgánicos, que reducen el pH intestinal y tienen efectos regulatorios sobre los patógenos microbianos y la absorción de minerales, los productos metabólicos también pueden influir en la integridad epitelial y la regulación hormonal. Las bacterias que responden a la ingesta prebiótica pueden influir en la composición de la microbiota mediante la elaboración de agentes antimicrobianos (por ejemplo, péptidos) e interacciones competitivas, posiblemente reduciendo infecciones y bacterias que contienen lipopolisacárido, glucagón como péptido¹, Células M, Células NK, péptido Y; TGF β , factor de crecimiento transformante β , células auxiliares T tipo 1, célula auxiliar T tipo 2 y células T reguladora, principalmente.

De acuerdo con la definición de prebióticos, especifica que favorecen selectivamente un específico número de bacterias. Los principales mecanismos de acción incluyen la modulación de la microbiota selectivamente, principalmente de los grupos *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, (principal teoría que da sustento al uso como simbióticos) cuya producción principal es acetato y lactato, y pueden hacerlo ya que dichos microorganismos sintetizan estos sacáridos simples de bajo peso molecular debido a la presencia de las enzimas glycosidasas β -fructanosidasa y β -galactosidasa (Markowiak y Śliżewska, 2018; Sanders *et al.*, 2019).

Dentro de los mecanismos de control sobre grupos específicos y contrario a promover bacterias *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, los prebióticos ejercen un control, disminuyendo la cantidad de algunas bacterias, entre ellas: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Clostridium aminophilium*, *C. stickland* y *C. perfringens* principalmente, lo anterior, debido a un mecanismo observado en los Mannan-oligosacáridos, donde estos, son capaces de unirse a la lectina específica de la manosa de patógenos, principalmente Gram Negativos, ya que estos expresan fimbrias Tipo-1; por otra parte los Oligo-sacáridos estimulan los procesos de fagocitosis y la proliferación de monocitos y macrófagos (Thomas *et al.*, 2004; Dalloul y Lillehoj, 2005; Gaggia *et al.*, 2010; Spring *et al.*, 2015; Adhikari y Kim, 2017). El mecanismo de unión a la manosa de la lectina, de acuerdo a lo publicado por Villarreal-Alarcón *et al.* (2008) y Padilla-

Docal *et al.* (2009), tiene también una función importante en la respuesta inmune innata, ya que opsoniza los microorganismos con abundantes cantidades de manosa o N-acetilglucosamina, resultando además en excretarlos del organismo por arrastre, también activa a los macrófagos mediante receptores C1q, así mismo, estimula la activación de la lectina y la tercera vía del complemento mediante dos proteasas de serina (MASP1 y MASP2).

Un beneficio más generado por los prebióticos, es la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato (dos carbonos), propionato (tres carbonos) y butirato (cuatro carbonos) esto como producto de su proceso de fermentación; dichos ácidos grasos ayudan a disminuir el pH intestinal, esto produce un ambiente ácido, que generalmente es hostil para patógenos provocando su considerable disminución y a su vez favorece la absorción de minerales como calcio, mejoran aspectos específicos del metabolismo intestinal, aprovechamiento de la energía, sistema inmune, regulación del apetito entre otros (Gibson *et al.*, 2017; Sanders *et al.*, 2019), además, los AGCC proveen de energía a las células epiteliales debido a su fácil absorción, ayudando también a modular las funciones regulatorias de los mecanismos de la inflamación. Lo anterior ha reflejado un efecto positivo al mejorar el comportamiento productivo en pollos de engorda y cerdos principalmente (Bomba *et al.*, 2002; Adhikari y Kim, 2017; Markowiak y Śliżewska, 2018).

En relación a la producción de AGCC, Sanders *et al.* (2019), afirman que la fermentación de estos compuestos en el intestino, puede interactuar con los receptores específicos FFAR2 y FFAR3, para regular la lipólisis, así como la liberación de glucagón provocando una sensación de saciedad o una disminución el consumo de alimentos, además de que el acetato producido por los AGCC puede traspasar la barrera hematoencefálica ingresando al hipotálamo, provocando señales anoréxicas, de acuerdo a un experimento en ratones desarrollado por Frost *et al.* (2014). Estos receptores se han encontrado en tejidos intestinales y pueden ser un mecanismo de enlace entre los prebióticos y este efecto.

Otro mecanismo propuesto es, la existencia de una interacción entre los AGCC y las células L intestinales, cuyo efecto es producir hormonas anorexigénicas como PYY y GLP-1. Otras teorías son que los AGCC, no son metabolizados por las células epiteliales del colon y pasan por vía porta al hígado, donde el propionato estimula la gluconeogénesis y esto actúa como una señal de saciedad (Mithieux, 2014). Este efecto de la reducción en el consumo o efecto de saciedad es consistente con los resultados de Zheng *et al.* (2018), ya que en su experimento donde suplementaron con un 2% de MOS en la dieta a ovinos, tuvieron un consumo de MS menor en comparación con su grupo testigo. Gaggia *et al.* (2010), recomiendan que este efecto debe ser revisado con amplia precaución en animales de producción ya que puede comprometer la ganancia diaria de peso.

Uso de prebióticos en la alimentación de rumiantes

La mayoría de los experimentos referentes a ganado mayor han sido en terneros neonatos, considerando su comportamiento gastrointestinal similar a un mono-gástrico dada la condición de su canaladura esofágica (Jonova *et al.*, 2017). Jonova *et al.* (2021), compararon la suplementación de un prebiótico (6 g/cab/día de prebiótico Inulina PreG) y un sinbiótico (6 g/cab/día Inulina + 5 g/cab/día *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026, SynG), o la ausencia de ambos (CoG). La respuesta fue evaluada en el desarrollo de la canaladura esofágica comparando el peso del rumen, su proporción relativa en relación con el peso vivo, el pH y algunos cambios histológicos en distintas partes del tracto gastrointestinal. Esta prueba tuvo una duración de 56 días, se utilizaron 15 terneros raza Holstein Fresian y Holstein Rojo (32±6 días de edad; 72.1±11.34 kg PVI), su alimentación inicial fue en base a leche entera (10% de leche en base a su peso vivo) y a partir de la cuarta semana se les alimentaron con sustituto de leche y concentrado iniciador para becerros. Al comparar los resultados del grupo CoG y el grupo PreG, este último aumento el pH del rumen, abomaso e intestino, mientras SynG lo disminuyó a valores inferiores que el grupo CoG. Los tratamientos PreG y SynG impactaron de manera positiva la morfología de las estructuras del rumen (*saccus dorsalis*, *saccus ventralis* e intestino). Los grupos suplementados con PreG y SynG no mostraron efecto en el peso del estómago. Los

autores concluyen que la suplementación con un sinbiótico puede promover el desarrollo del rumen y el tracto gastrointestinal en terneros.

En rumiantes desarrollados su uso ha sido limitado debido a la capacidad fermentativa de degradar una gran cantidad de estructuras (Zheng *et al.*, 2021), no obstante, se han realizado diferentes experimentos donde se han observado mejorías en el comportamiento productivo y la fermentación ruminal (Salinas-Chavira *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2018). Dentro de algunas pruebas realizadas en rumiantes se han obtenido los siguientes resultados: La adición de MOS a la dieta de terneros Holstein mejoró la consistencia de las heces reduciendo la incidencia de casos de diarrea, comparado con el grupo control, sin embargo, la ganancia diaria de peso no se mejoró (Heinrichs *et al.*, 2003); contrario a lo publicado por Hooge (2006), quien en un meta-análisis encontró un aumento del 10 al 15% en la ganancia diaria de peso o el equivalente a 70 gramos más por día.

En el caso de bovinos destinados a la producción de carne, Pontarolo *et al.* (2021), evaluaron los efectos de suplementar levadura *S. cerevisiae* autolizada (RumenYeast®) a bovinos. Para su experimento utilizaron un diseño de bloques completos aleatorizados donde evaluaron la respuesta del aditivo sobre el comportamiento productivo, digestibilidad aparente y características de la canal en 36 toros cruza Angus X Nelore (330 ± 9.8 kg) en etapa de finalización. Los tratamientos utilizados se describen a continuación: 1) Dieta basal sin aditivo (CON); 2) Dieta basal más 4 g/cab/día de levadura autolizada (Y4) y 3) Dieta basal más 7 g/cab/día (Y7). La inclusión de levadura autolizada tuvo como efecto una mayor ganancia diaria de peso y conversión alimenticia en la fase inicial del proceso de engorda (Cuadro 4). La digestibilidad aparente de MS fue mejor en los dos grupos que recibieron el aditivo. El tratamiento Y4 mostró mejores resultados en cuanto a comportamiento productivo respecto al tratamiento Y7, sin embargo en las variables de la canal fueron estadísticamente similares entre ambos grupos (Cuadro 5). En general, los autores concluyen que la suplementación con 4 g/cab/día de *S. cerevisiae* autolizada (RumenYeast®) tiende a generar mejores resultados en el comportamiento productivo en bovinos en etapa de finalización.

Cuadro 4. Comportamiento productivo de toros en etapa de finalización suplementados con levadura autolizada.

Parámetro	Tratamientos			Media	EEM	Valor de P
	Testigo	Y4	Y7			
GDP (kg/día)						
0-14 días	1.452 ^b	1.667 ^a	1.536 ^{ab}	1.552	0.048	0.0266
0-42 días	1.220	1.304	1.248	1.257	0.060	0.7846
0-70 días	1.335	1.392	1.357	1.361	0.050	0.8472
0-105 días	1.375	1.448	1.425	1.416	0.050	0.7636
CMS (kg/día)						
0-14 días	9.04	8.77	8.94	8.92	0.09	0.3181
0-42 días	9.49	9.25	9.33	9.36	0.11	0.5836
0-70 días	9.65	9.42	9.40	9.49	0.12	0.5637
0-105 días	9.87	9.59	9.65	9.70	0.15	0.6473
CMS (% PV)						
0-14 días	2.56	2.49	2.54	2.53	0.02	0.4640
0-42 días	2.54	2.48	2.51	2.51	0.03	0.5728
0-70 días	2.45	2.40	2.40	2.42	0.03	0.4900
0-105 días	2.36	2.29	2.30	2.32	0.02	0.4140
CA (kg/día)						
0-14 días	6.42 ^a	5.58 ^b	5.99 ^{ab}	6.00	0.24	0.0496
0-42 días	8.02	7.67	7.94	7.88	0.36	0.8819
0-70 días	7.55	7.15	7.34	7.35	0.24	0.7045
0-105 días	7.50	6.90	7.07	7.16	0.23	0.4518

*Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

Pontarolo *et al.*, 2021

Cuadro 5. Comportamiento productivo y características de la canal de toros en etapa de finalización suplementados con levadura autolizada.

Parámetro	Tratamientos			Media	EEM	Valor de P
	Testigo	Y4	Y7			
Peso Inicial (kg)	332.5	328.4	330.3	330.4	2.9	0.9788
Peso final (kg)	476.9	480.4	479.9	479.1	5.7	0.9472
Peso Canal Caliente (kg)	258.0	260.0	257.9	258.6	3.4	0.9423
Rendimiento en canal (%)	54.1	54.2	53.7	54.0	0.3	0.7503
Espesor de grasa dorsal (mm)						
<i>Longissimus dorsi</i>	4.75 ^b	5.50 ^a	5.42 ^a	5.22	0.10	0.0151
Cuarto delantero	3.75 ^b	4.58 ^a	4.42 ^a	4.25	0.25	0.0449
Costilla	5.17 ^b	6.00 ^a	6.17 ^a	5.78	0.27	0.0432
Cuarto trasero	5.33 ^b	5.92 ^a	5.75 ^a	5.67	0.26	0.0396
Largo de la canal (cm)	125.47	127.47	125.01	125.98	0.57	0.1248
Grosor de la pierna (cm)	22.38	22.02	22.28	22.23	0.26	0.7642
Largo del cuarto delantero (cm)	39.51	39.15	38.82	39.16	0.38	0.6683
Perímetro del cuarto delantero	39.73	40.63	40.18	40.18	0.29	0.3479

*Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

Pontarolo *et al.*, 2021.

Zheng *et al.* (2021), evaluaron el efecto de la adición de cuatro niveles de mannan oligosacáridos (MOS) en el comportamiento productivo, digestibilidad de nutrientes, fermentación ruminal y 12 parámetros hematológicos en ovinos. Para esta prueba utilizaron 96 ovinos raza Hu (31.11 ± 2.69 kg), los dividieron aleatoriamente en 4

grupos asignándolos a uno de los siguientes tratamientos: 1) 0% MOS; 2) 0.8% MOS; 3) 1.6% MOS y 4) 2.4% MOS (el porcentaje representa el nivel de inclusión de MOS en la dieta en base fresca). El experimento se desarrolló en un diseño completamente al azar. Dentro de los resultados obtenidos, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el peso final, ganancia diaria de peso y consumo de materia seca ($P > 0.05$), los resultados numéricos se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Efecto de la suplementación de distintas dosis de MOS en la ganancia diaria de peso de ovinos.

Parámetro	Tratamiento				EEM	Valor de P
	0%	0.8%	1.6%	2.4%		
PI (kg)	30.82	31.14	31.25	31.25	0.276	0.940
CMS (g/d)	1595	1540	1556	1481	27.56	0.551
PF (kg)	38.37	37.74	38.77	38.58	0.374	0.782
GDP(g/d)	207.1	190.9	213.5	214.6	7.578	0.667

Zheng *et al.*, 2021

La digestibilidad de MS y MO del tratamiento 1.6% MOS fue mayor en comparación con el grupo 0% MOS ($P = 0.010$, $P = 0.016$) y la digestión de FDN y FAD fue superior en comparación con los otros tres tratamientos (0% MOS: $P = 0.003$, $P = 0.028$; 0.8% MOS: $P = 0.001$; $P = 0.001$ y 2.4% MOS $P = 0.029$, $P < 0.001$). La digestibilidad de la PC fue mayor en el grupo 1.6% MOS comparado con los grupos 0% MOS y 0.8% MOS ($P = 0.040$ y $P = 0.044$ respectivamente). La concentración de nitrógeno amoniacal de los tratamientos 1.6% MOS y 2.4% MOS fue menor en comparación con el tratamiento 0%MOS ($P = 0.035$ y $P = 0.013$). No se observaron efectos en los parámetros hematológicos medidos en el experimento ($P > 0.05$). Mediante estos resultados, los autores concluyen que: mejora el uso de los nutrientes en rumiantes, especialmente el nitrógeno. Ellos sugieren que es necesario realizar investigaciones donde se traten de explicar los mecanismos de este aditivo a nivel molecular.

1.2.2.5 Sinbióticos

La denominación de “Sinbiótico” hace alusión a la palabra “sinergismo” (Pandey *et al.*, 2015), la cual se define como: “acción conjunta de dos o más causas cuyo efecto es superior a la suma de los efectos individuales” (RAE, 2020). Gibson y Robertfroid (1995) propusieron el término por primera vez para denominar el uso de probióticos más prebióticos como aditivo alimentario, definiéndolo como sigue: “mezcla de probióticos y prebióticos que ejercen un efecto positivo en el organismo, mejorando la supervivencia e implantación de microorganismos vivos en el tracto gastrointestinal, estimulando selectivamente el crecimiento y/o activando el metabolismo de uno o más tipos de bacterias específicas, las cuales pueden promover o mejorar el estado de salud del huésped”. El principal propósito de esta combinación fue aumentar la supervivencia de los probióticos en el organismo, ya que estos contienen enzimas que pueden degradar los prebióticos y utilizarlos como una fuente de energía (Markowiak y Śliżewska, 2018).

No obstante, Swanson *et al.* (2020), propusieron la siguiente definición, la cual se considera como oficial: “una mezcla que comprende microorganismos vivos y sustratos, utilizados selectivamente por los microorganismos vivos y esto confiere beneficios a la salud del organismo”, además los dividen en dos categorías, “sinbiótico sinérgico” o “sinbiótico complementario”; el primero es un sinbiótico en el que el sustrato está diseñado para ser utilizado selectivamente por los microorganismos administrados y el segundo es un sinbiótico compuesto por un probiótico combinado con un prebiótico que está diseñado para atacar microorganismos autóctonos.

Uso de sinbióticos en la alimentación de rumiantes

Bagheri *et al.* (2008), evaluaron los efectos de la suplementación de levadura viva de *S. cerevisiae*, mannan oligosacáridos (MOS) y la combinación de ambos, en las características del comportamiento productivo, metabolitos sanguíneos y digestibilidad de nutrientes durante la fase inicial del periodo de lactancia de vacas alimentadas con una dieta a base de ensilaje de maíz y alfalfa como fuentes de forraje (22.4% Forraje FDN). Para su experimento utilizaron ocho vacas Holstein, multíparas (27 días en leche

en promedio) en un diseño cuadrado latino replicado 4x4. Las dietas tenían una proporción de 45% forraje y 55% concentrado en base a materia seca (MS). Los tratamientos utilizados fueron los siguientes: 1) Dieta basal sin aditivos (Testigo), 2) Dieta basal más 32 g/día de mannan oligosacáridos (MOS), 3) Dieta basal más 1.2×10^{10} CFU/día de levadura viva de *Saccharomyces cerevisiae* cepa CNCM 1-1077 (SC) y 4) Dieta basal más la combinación de los tratamientos 1 y 2 (SC+MOS).

Ninguno de los tratamientos tuvo efecto en el CMS o producción de leche al 3.5% de grasa (FLC) y energía corregida de la leche (ELC), tampoco tuvo efecto en el porcentaje de grasa de la leche, condición corporal y metabolitos sanguíneos. Al comparar el grupo SC con el grupo Testigo, encontraron diferencias numéricas para el FLC (41.9 y 40.1 kg/día) y ELC (41.8 y 40.3), el porcentaje de la grasa en leche (3.64 y 3.43). El tratamiento SC+MOS incrementó el porcentaje de proteína de la leche ($P < 0.05$) comparado con el grupo Testigo, mientras los tratamientos MOS y SC+MOS tuvieron un efecto numérico en el porcentaje de grasa de la leche. La suplementación de SC incrementó la digestibilidad aparente de MS y PC, el uso de MOS no modificó la digestibilidad de nutrientes. La concentración total de AGV's y el pH ruminal fue similar entre los tratamientos. Con los resultados obtenidos del experimento, los autores concluyen que; la suplementación con MOS provoca resultados variables e inconsistentes en el metabolismo ruminal, así como, en el comportamiento productivo. El uso individual de SC mejora la digestibilidad de nutrientes y aumenta numéricamente los factores corregidos de grasa y energía de la leche, este efecto no se observó al combinarse con MOS. La suplementación de MOS de manera individual, así como su combinación con SC no tiene efecto en el comportamiento productivo de vacas lecheras.

Recientemente, Castro-Pérez *et al.* (2021), utilizaron 24 ovinos cruzados Pelibuey x Katahdin (36.4 ± 2.9 peso vivo inicial), para desarrollar una prueba de comportamiento productivo utilizando un diseño de bloques completos al azar durante 77 días. El objetivo del experimento fue evaluar el efecto de una fuente estandarizada de sinbióticos (*Lactobacillus plantarum* 1×10^{10} , *Bacillus subtilis* 1×10^{10} , *Saccharomyces cerevisiae* 1×10^{10} , β - glucanos 5%) y gliconutrientes 15% (GLY) en la respuesta

productiva, eficiencia energética y características de la canal en ovinos alimentados con una dieta alta en energía, bajo condiciones de temperatura ambiental elevada. Los tratamientos utilizados fueron los siguientes: 1) Dieta basal + 0% de GLY y 2) Dieta basal + 4% de GLY. Durante el desarrollo de su experimento, el indicador de temperatura y humedad (THI por sus siglas en inglés) fue de 76.23, el cual corresponde a la clasificación de “alerta”, el THI fue superior a 80 entre 2 a 6 horas al día durante la duración total del experimento. El consumo de GLY promedió 0.10 g de GLY/ kg de peso vivo. La suplementación de GLY aumentó el consumo diario de agua ($P = 0.04$) sin modificar el CMS. El grupo que recibió el aditivo tuvo un aumento ($P = 0.03$) en la GDP, eficiencia alimenticia y Energía Neta estimada de la dieta, esto, en ambos periodos, a los 56 y 77 días. Los ovinos del tratamiento GLY tuvieron mayor peso en canal caliente y espesor de grasa ($P \leq 0.05$), mientras su grasa de RPC disminuyó significativamente ($P = 0.02$). La suplementación del aditivo no tuvo efectos sobre la composición de tejidos de la paleta izquierda o el peso de las vísceras ($P \geq 0.16$). Los autores concluyen que la suplementación de una fuente estandarizada de sinbióticos y gliconutrientes mejora el comportamiento productivo, la eficiencia energética de la dieta y el peso de la canal de ovinos en etapa de finalización bajo condiciones de elevada temperatura ambiental. La mejora a la energética de la dieta fue mas apreciable durante los primeros 56 días de la prueba.

García-Díaz *et al.* (2018), utilizaron ovinos alimentados con dietas altas en energía y suplementaron *S. cerevisiae* (LY), Mannan oligosacáridos (MOS) y la combinación de ambos. La suplementación con MOS y la combinación de MOS+LY aumentó significativamente el pH ruminal, mientras la concentración de AGCC solo aumentó bajo la suplementación de MOS+LY. La concentración de amoniaco en rumen fue disminuida por el uso de los aditivos mencionados; así mismo, la concentración de lipopolisacáridos en plasma, comparado con el grupo testigo. El grosor de las papilas ruminales se vio mejorado en mayor cantidad en los ovinos suplementados con MOS que el tratamiento LY. La incidencia de abscesos hepáticos fue disminuida al suplementar LY, MOS y MOS+LY.

1.3 CONCLUSIÓN

El uso de aditivos alimenticios en la producción intensiva de rumiantes es una práctica que ha mejorado el uso de los nutrientes. No obstante, el desarrollo de tendencias de producción enfocadas a disminuir o no utilizar aditivos promotores del crecimiento con características antibióticas, han generalizado el uso de aditivos alternativos o clasificados como GRAS (Generally recognized as safe, por sus siglas en inglés); entre los cuales han destacado los aceites esenciales, las enzimas, minerales y los eubióticos.

El uso de eubióticos tiene un largo historial de resultados inconsistentes, atribuidos a diferentes causas, sin embargo, la estandarización actual en las cepas ha influenciado a retomar su estudio. Así mismo, el conocimiento de mecanismos de acción más específicos de los probióticos y prebióticos ha resultado en un mayor entendimiento de que si bien, buscan objetivos similares, sus procesos son muy distintos, además, existen resultados de algunos experimentos y particularidades en sus propiedades y mecanismos de acción que podrían favorecer su uso en conjunto generando un efecto sinérgico.

CAPÍTULO 2: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN INDIVIDUAL O COMBINADA DE PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS EN LAS CARACTERÍSTICAS DE FERMENTACIÓN RUMINAL Y DIGESTIÓN DE TRACTO TOTAL EN OVINOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN.

ARTÍCULO 1

Effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation, ruminal bacteria and total tract digestion in lambs

O. Zapata^a, A. Cervantes^b, A. Barreras^b, F. Monge-Navarro^b, V.M. González-Vizcarra^b, A. Estrada-Angulo^a, J.D. Urías-Estrada^a, L. Corona^c, R.A. Zinn^d, I.G. Martínez-Alvarez^e, and A. Plascencia ^{e*}

^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Blv. San Angel, CP 80260, Sinaloa, México

^b Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California. Km 4.5 carretera Mexicali-San Felipe, CP 21386, Mexicali, Baja California, México.

^c Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Col. CU, Coyoacán, CP 04510, Cd. De México, México

^d Animal Science Department, University of California, Davis 95616.

^e Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Occidente, Av. Universidad S/N, Flamingos, CP 81048, Guasave, Sinaloa, México.

* Corresponding author present address at: Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Occidente, Guasave, México

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

Publicado en: Small Ruminant Research 204(2021) 106538

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106538>

2.1 Abstract

Probiotics (beneficial living microorganisms) and prebiotics (fiber, cell wall material, mannan polysaccharides derived through hydrolysis of yeast cell walls) are feed additives that may have beneficial extra-nutritional pharmaceutical and/or metabolic effects on livestock health and growth performance. Due to differences in modes of action, their combination may have additive effects on digestion and fermentation in ruminants. For this reason, four male lambs (Dorper; 45.1 ± 2.7 kg initial weight) with “T” cannulas in the rumen were used in a 4×4 Latin square experiment to evaluate the effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation and total tract digestion. Dietary treatments consisted of a cracked corn-based basal finishing diet supplemented with: 1) no eubiotics (Control); 2) 3 g of live *saccharomyces cerevisiae* /lamb/day (2×10^{10} cfu/g, SC), 3) 3 g of mannan oligosaccharide (30 % w/w) plus b-glucans (20 % w/w) /lamb/day (MOS), and 4) combination of 1.5 g/day SC and 1.5 g/day MOS (SCMOS). Compared to controls, SC supplementation tended ($P = 0.09$) to increase total tract digestion of DM and OM, and increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N, starch, and digestible energy (DE). Compared with Control, MOS increased total tract NDF (7.9 %, $P < 0.01$) and starch digestion, and tended to improve total tract digestion of ($P = 0.09$), N ($P = 0.07$), and DE diet ($P = 0.07$). Compared to Control, SCMOS increased ($P \leq 0.03$) total tract digestion of all fractions evaluated, including a 4.2 % ($P < 0.01$) increase in DE. Although lambs fed MOS had greater (6.7 %, $P = 0.02$) NDF digestion than those fed SC, differences in total tract digestion of DM, OM, N, starch and DE diet were not appreciable ($P \geq 0.24$). Compared with SC and MOS fed separately, SCMOS increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N and NDF. Supplemental MOS and SCMOS tended ($P = 0.09$) to promote greater ruminal pH than the Control. Combining supplementation decreased ($P \leq 0.03$) the molar proportion of butyrate and ruminal ammonia, consistent with decreased of ruminal concentration of *C. aminophilum*. Probiotic/prebiotic supplementation of high-energy lamb finishing diets enhances total tract digestion and digestible energy. Reduction hyper-ammonia producing ruminal bacteria with the combination probiotic plus prebiotic may contribute to improved dietary N economy.

The combination of probiotics with prebiotics potentiates positive effects on digestion and ruminal fermentation in lambs fed a high-energy diet.

Keywords: Digestion, eubiotics, feedlot, fermentation, lambs.

2.2 Introduction

Supplemental antibiotics have benefited cattle fed high-grain rations, contributing to increased ruminal fermentative efficiency associated with decreased ruminal degradation of feed N and lactic acid production (Modi et al., 2011). Subtherapeutic levels of antibiotics may also help maintenance of healthy ruminal epithelium and intestinal mucosa through selective effects on microbial populations and enhanced postruminal nutrient uptake (Niewold, 2007). However, mounting concerns regarding the potential for development of antibiotic resistance (Landers et al., 2012) has prompted the search for eubiotic alternatives. In recent years, probiotics and prebiotics (among others natural extracts), have been described by the general term “eubiotics”, which is related to the Greek term “eubiosis”, referring to an optimal balance of microflora in the gastrointestinal tract (Markowiak and ‘Sli’ zewska, 2018). Probiotics (beneficial living microorganisms) and prebiotics (fiber, cell wall material, mannan polysaccharides derived through hydrolysis of yeast cell walls) may contribute to intestinal health by stimulating the development of a healthy microbial ecosystem, enhancing ruminal digestive capacity and postruminal nutrient uptake, restoring gut microflora, inhibition of enteric pathogen colonization, and enhancing mucosal immunity, due this potential for synergism, the combinations are referred to as synbiotic (Uyeno et al., 2015). Since probiotics and prebiotics have different mechanisms of action, their combined effects may be additive (Radzikowski, 2017). However, very limited information is available regarding the combined effects of supplemental probiotics and prebiotics on digestive function in ruminants fed high-energy finishing diets. Accordingly, the present study was conducted to evaluate the effects of single or combined dietary supplementation of probiotics and prebiotics on characteristics of ruminal fermentation and total tract digestion in lambs fed a high-energy finishing diet.

2.3 Material and methods

All procedures were conducted within the guidelines of approved local official techniques specifications for the care and use of laboratory and farm animals (NOM-ZOO-1999) These regulations are in accordance with the specific principles and guidelines presented in IACUC-290-30 and by the Guidelines for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching (Federation of Animal Science Societies [FASS] 2010).

2.3.1 Animals, diets, sampling and samples analyses.

Four male lambs (Dorper; 45.1 ± 2.7 kg initial weight) with “T” type cannulas in the rumen were used in a 4×4 Latin square experiment to evaluate the effects of treatments on total tract digestion, ruminal fermentation, and ruminal concentration of *C. aminophilum* and *C. sticklandii* (hyper-ammonia-producing bacteria). Lambs were treated for internal parasites (Ivermectin, Vetoquinol, México), received injections of vitamins A, D, E (Synt-98 ADE, Fort Dodge, Animal Health, México) and were housed in individual metabolism crates ($1.5 \times 1.8 \times 0.7$ m) in an indoor facility with access to water at all times. Treatments consisted of a cracked corn-based basal finishing diet (Table 1) supplemented with: 1) no eubiotics (Control); 2) 3 g of live *Saccharomyces cerevisiae*/lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC, Active Flora, ICC, São Paulo, Brazil); 3) 3 g of mannan oligosaccharide plus β -1glucans/lamb/day [MOS; mannan oligosaccharide (35% w/w) plus β -glucans (20% w/w), ICC, São Paulo, Brazil) and 4) 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/lamb/day MOS (SCMOS). Daily dosage of eubiotics corresponds to 0.07 g eubiotic/kg of live weight. Respective eubiotics supplements were hand-weighed using a precision balance (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, USA) and top-dressed on the basal diet at the time of feeding. Chromic oxide (3.0 g/kg diet, air-dry basis) was used as an indigestible marker to estimate digestion. Chromic oxide was mixed in a 2.5-m^3 capacity concrete mixer (model 30910-7, León Weill, SA, Coyoacán, México) for 5 min with minor ingredients (mineral supplement composed of limestone and trace mineral salt) before being mixed with the remainder of ingredients in the basal diet. All lambs were adapted to the basal diet for 21 days before the initiation of the trial. To avoid refusals during experimental phase, daily feed intake (as feed basis) was restricted to 1.27 kg (equivalent to the 90% of ad libitum intake of lambs during the last

7-d of preliminary period). Diets were fed in two equal proportions at 08:00 and 20:00 hours daily. In order to reduce the potential for treatment carry-over effects with this type of experiment design (Latin square), treatment additives were withdrawn for 7 days before initiating the next 21-day treatment period. Accordingly, experimental periods were 28 days, with 7 days of eubiotics withdrawal (all lambs were fed the basal control diet), 18 days of adjustment to respective dietary treatments, and 3 days of sample collection. During the collection period, feces voided were collected (approximately 50 g) each day at 750, 1150 and 1550 h (Abouheif et al., 2016). Samples from each lamb and within each collection period were composited for analysis. Fecal samples were weighed, and then stored at - 20 °C for subsequent analysis. On third day of the each collection period, approximately 100 ml of ruminal fluid was obtained from each lamb at 1000 and 1200 h via the ruminal cannula. Ruminal pH was immediately determined on fresh samples (Orion 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA.). Ten mL of 10 ml of freshly mixed ruminal fluid was stored at - 20 °C for microbial analysis (concentration of *Clostridium aminophilum* and *Clostridium sticklandi*). The remaining ruminal fluid was strained through 4 layers of cheese cloth. Two mL of freshly prepared 25 % (w/v) metaphosphoric acid was added to 8 ml of strained ruminal fluid. Samples were then centrifuge (17,000 × g for 10 min) and supernatant fluid was stored at - 20 °C for VFA analysis. Ten mL of strained ruminal fluid was acidified with 0.5 ml of 6 N HCL and stored at - 20 °C for ammonia N analysis.

Feed and fecal samples were subjected to the following analyses: DM (oven drying at 105 °C until no further weight loss; method 930.15; AOAC, 2000); CP (N × 6.25, method 984.13; AOAC, 2000); ash (method 942.05; AOAC, 2000); aNDFom [Van Soest et al., 1991, corrected for NDF-ash, incorporating heat stable α-amylase (Ankom Technology, Macedon, NY) at 1 ml per 100 ml of NDF solution (Midland Scientific, Omaha, NE)]; starch (Zinn, 1990), chromic oxide (Hill and Anderson, 1958), and gross energy (using the adiabatic bomb model 1271; Parr Instrument Co., Moline, IL, USA).

Ruminal VFA concentrations were determined by gas chromatography using a DB-FFAP Megabore column (30 m x.530 mm, J&W Scientific, Folsom, Cal. Column, inlet and detector temperatures were maintained at 130, 155, and 165 °C, respectively, with

carrier gas (He) flow rate at 20 mL/min. Ammonia N (N-NH₃) in ruminal fluid was determined by procedures indicated from Fawcett and Scott (1960).

Total fecal DM excretion was estimated by the relationship of Cr intake (g) versus concentration of Cr in fecal samples as follows: total DM output, g/day = g Cr₂O₃ intake daily/ (g Cr₂O₃/g of feces). Organic matter (OM) content of feed and fecal samples were estimated as DM concentration minus ash content. Methane production was calculated based on the theoretical fermentation balance for observed molar distribution of VFA and OM fermented in the rumen (Wolin, 1960).

2.3.2 Identification and ruminal concentration of bacteria *C. aminophilum* and *C. sticklandii*) DNA extraction

Total genomic DNA was extracted from ruminal fluid samples. Briefly, 100 ml of ruminal fluid was strained through two layers of cheese cloth and a 1.0 ml aliquot washed 3 times with phosphate buffered saline pH 7.4 (PBS). Using 15 ml conical centrifuge tubes, 1.0 ml of strained ruminal fluid was added to 9.0 ml of PBS, vortexed for 30 s and centrifuged at 650 x g for 10 min at room temperature (RT). In wash steps 1 and 2, supernatants were discarded and the pellet resuspended in 10.0 ml of PBS. In step 3, the supernatant was discarded and the pellet resuspended in 1 ml of PBS. Then, 300 µL of the resuspended pellet was subject to bead disruption 3 times for 30 s with two minutes of incubation on ice between steps. Disrupted ruminal fluid solids were centrifuged at 5000 x g for five minutes at (RT) and genomic DNA extracted from 200 µl of the supernatant using the PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), following the manufacturer's instructions. The primers for HAB microorganisms were designed and evaluated using the Primer3 Plus web tool (<https://primer3plus.com/cgi-bin/dev/primer3plus.cgi>), the Gene Runner software (<http://www.generunner.net/>) and the Oligonucleotide Properties Calculator (<http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html>). Primers for *Clostridium sticklandii* (GenBank NR_102880.1) were designed to amplify at 122 bp fragment of the 16S ribosomal RNA; primers for *Clostridium aminophilum* strain F (GenBank NR_118651.1) were designed to amplify at 144 bp fragment of the 16S ribosomal RNA (Table 2.).

To establish the optimal volumes and concentrations of reagents for the RT-PCR, the oligonucleotides of each HAB microorganism were tested in triplicate at a concentration of 200 nM, 400 nM and 800 nM with 1 μ L, 2 μ L and 3 μ L of template DNA, respectively, in a total reaction volume of 20 μ L using a master mix containing the EvaGreen fluorophore (Biotium, Hayward, CA, USA), a high-affinity fluorescent stain for double-stranded DNA, no toxic or mutagenic.

Extracted DNA from ruminal fluid samples was RT-PCR amplified using the specific primers for each HAB microorganism. The amplified PCR product of each separate HAB was mixed and homogenized in a single aliquot and titrated using a Nanodrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) to obtain the DNA copy number per-micro liter of PCR amplified product for each HAB microorganism. The titrated DNA was used as to construct a standard curve for the quantitative RT-PCR for HAB microorganisms. Briefly, serial 10 \times dilutions were generated for standardized cDNA samples from 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 and 10^2 ; tested in quadruplicate using the RT-PCR platform and the threshold cycle plotted in a graph versus the dilution factor and fit the data to a straight line. A real-time PCR test with 90%–110% efficiency with an accuracy based on an $R^2 > 0.99$ and amplification curves with T_m within the estimated range for a particular amplicon are considered accurate and efficient (Schlachter et al., 2017).

Results of the amplification standard curve calculated by the BioRad CFX96 software showed that the optimal combination of reagents to obtain maximum amplification in the samples was achieved by mixing the oligonucleotides at a concentration of 800 nM with 2 μ L of DNA template, applying an initial denaturation cycle of 95 $^{\circ}$ C for 3 min, followed by 40 cycles of 10 s of denaturation at 95 $^{\circ}$ C, 20 s of hybridization at 59.0 $^{\circ}$ C and a final extension cycle at 72 $^{\circ}$ C of 15 s. Quantification of HAB microorganism in ruminal fluid samples amplified by RT-PCR was performed using a Nano-Drop spectrophotometer: number of copies = (quantity \times 6.022 \times 1023) / (length \times 1 \times 109 \times 500) and expressed as log₁₀.

2.3.3 Statistical design and analysis

Treatment effects on characteristics of digestion, ruminal pH, VFA, ammonia N and bacteria concentrations were analyzed as a 4 × 4 Latin square design following the MIXED procedure (SAS, 2007), where fixed effect was treatment, and random effects were lamb and period according to the following statistical model:

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

here: Y_{ijk} is the response variable, μ is the common experimental effect, S_i is the steer effect, P_j is the period effect, T_k is the treatment effect and E_{ijk} is the residual error.

In all cases, least squares mean and standard error are reported and contrasts were considered significantly when the P value was ≤ 0.05 , and tendencies are identified when the P -value was > 0.05 and ≤ 0.10 .

2.4 Results

Treatment effects on total tract digestion are shown in Table 3. Compared to controls, SC supplementation tended ($P = 0.09$) to increase total tract digestion of DM and OM, and increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N, starch, and digestible energy (DE), but did not affect ($P = 0.61$) NDF digestion. Compared with Control, MOS increased total tract NDF (7.9 %, $P < 0.01$) and starch digestion, and tended to improve total tract digestion of DM ($P = 0.09$), N ($P = 0.07$) and DE diet ($P = 0.07$). Compared to Control, SCMOS increased ($P \leq 0.03$) total tract digestion of all fractions evaluated, including a 4.2 % ($P < 0.01$) increase in diet DE. Although lambs fed MOS had greater (6.7 %, $P = 0.02$) NDF digestion than those fed SC, differences in total tract digestion of DM, OM, N, starch and DE diet were not appreciable ($P \geq 0.24$). Compared with SC and MOS, fed separately, the combination of the two (SCMOS) increased ($P < 0.05$) total tract digestion of N and NDF. Treatment effects on ruminal parameters are shown in Table 4. Average observed ruminal pH (5.79 ± 0.26) was consistent with predicted based on the diet formulation (5.78; NRC, 2000, Level 1). However, ruminal pH tended to be greater ($P = 0.09$) for MOS and SCMOS than controls (5.94 vs 5.65). Supplemental eubiotics did not affect molar proportions of acetate and propionate, and estimated methane production. Compared with Control, eubiotic supplementation decreased ($P < 0.03$) molar proportion of butyrate and ruminal ammonia concentration ($P \leq 0.01$).

Compared with Control, SCMOS decreased ($P < 0.05$) ruminal *C. aminophilum* concentration without effect on *Clostridium sticklandii* concentration (Table 5).

2.5 Discussion

As noted in a recent review (Arowolo and He, 2018), effects of probiotics on nutrient digestion have been extensively studied. Increased digestion of OM and DE with probiotic (mostly, yeast) supplementation is largely attributable to enhancements in NDF and N digestion. Indeed, increased fiber digestion and DE of diet has been a consistent effect of supplemental live *Saccharomyces c.* (Chaucheyras-Durand et al., 2008; L'opez-Soto et al., 2013). The basis for this is not certain, but apparently, provide intrinsic and extrinsic factors that directly and/or indirectly enhance ruminal cellulolytic activity (El-Waziry and Ibrahim, 2007; Krizova et al., 2011). Salinas-Chavira et al. (2018) observed a 25 % increase in total tract NDF digestion when hydrolyzed cell wall yeast was supplemented at dose of 3 g/animal (equivalent 0.01 g prebiotic/kg LW) in steers fed a high-grain finishing diet. This increase in total tract digestion was due to both enhanced ruminal (11 %) and postruminal (12 %) NDF digestion. Likewise, Zheng et al. (2018) observed increased total tract NDF digestion in sheep supplemented with mannan-oligosaccharides (daily dosed at 0.3 g/kg LW). In contrast, Jin et al. (2014) did not detect any appreciable effects in total tract digestion in steers supplemented with MOS (0.2 % of diet DM, approximately 0.04 g MOS/kg LW).

Effects of probiotics and/or prebiotics on N digestion have been variable. However, when an effect was detected, it was attributed to increased ruminal microbial synthesis with the concomitant increase of duodenal flows of microbial N, promoting efficiency of N uptake (Williams and Newbold, 1990; Hristov et al., 2010). Plascencia et al. (2017) increased apparent total tract N digestion in feedlot steers fed standardized blend of *S. cerevisiae* plus b-glucans dosed at 0.10 g/kg LW (16 g blend/steer/d). This effect was associated with both increased flow of non-ammonia N to the small intestine and increased postruminal N uptake.

It has been proposed that supplementation with probiotics and prebiotics can have a stabilizing ruminal pH, lowering the risk of sub-acute ruminal acidosis in animals fed high-energy diets (Chaucheyras-Durand et al., 2012; Lettat et al., 2012). However, as numerous factors are involved (ie. dosage and type of eubiotics, diet energy density,

and feeding strategies), research findings in this regard have been inconsistent. In some studies (Tripathi et al., 2008; López-Soto et al., 2013) supplementation with *S. uvarum* and *S. cerevisiae* did not affect pH. Whereas, in others, live *S. cerevisiae* supplementation increased (Khadem et al., 2007) or even decreased (Tripathi and Karim, 2011) ruminal pH. Changes (increases/decreases) in ruminal pH by supplemental probiotics or prebiotics are often related to the changes in the activity and/or number of lactate fermenting bacteria such as *Megasphaera elsdenii* and *Selenomonas ruminantium*, changes in ruminal protozoa and fungal population, and changes in ruminal VFA production (Kowalik et al., 2011; Pinloche et al., 2013; Ding et al., 2014).

Treatment effects on total VFA and ruminal ammonia concentration in present study are consistent with Khadem et al. (2007) and Krizova et al. (2011), who reported increased total VFA concentration and reduced ruminal ammonia concentration with *S. cerevisiae* supplementation. Whereas, Tripathi et al., 2008 and García-Díaz et al., 2018 reported that probiotic supplementation alone (*S. cerevisiae*) or combined (*S. cerevisiae* plus MOS) did not affect ruminal VFA concentration. Findings with combined supplementation of present study corroborate findings of García-Díaz et al. (2018), wherein supplementation of lambs with the *Saccharomyces* plus MOS likewise increased ruminal pH and decreased ruminal ammonia N.

Effects of probiotic on butyrate molar proportions have been characteristic of type of supplemental probiotic. Increases in ruminal butyrate production have been observed with *Megasphaera elsdenii*, but not with *Saccharomyces cerevisiae* (Diao et al., 2019). It has been proposed that butyrate production (and hence clostridium population) could be affected by initial butyrate concentration before probiotic is ingested. Greater butyrate concentration previous to probiotic ingestion caused a decrease in butyrate production (and clostridium population). Lower butyrate concentration before probiotic ingestion produced the opposite effect (Ferrario et al., 2014). Declines in butyrate molar proportions and ruminal ammonia are consistent with reductions in ruminal clostridial populations (Van den Abbeele et al., 2013).

2.6 Conclusions

Probiotic and prebiotic supplementation of high-energy lamb finishing diets enhances total tract digestion and digestible energy. The combination of probiotics and prebiotics cause a reduction of hyper-ammonia producing ruminal bacteria (mainly *C. aminophilum*) which may contribute to improved dietary N economy. The combination of probiotics with prebiotics potentiates positive effects of supplemental eubiotics on digestion and ruminal fermentation in lambs fed high-energy diets.

2.7 Conflict of interest statement

Author declare no conflict of interest.

2.8 References

- Abouheif, M., Al-Sornokh, H., Swelum, A., Shafaty, T., Mahmoud, A., Alshamiry, F., Haroon, R., 2016. Effects of intake restriction and realimentation on diet digestion and ruminal fermentation by growing lambs. *Global Adv. Res. J. Agric. Sci.* 5, 126–131.
- AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD.
- Arowolo, M.A., He, J., 2018. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics. A review. *Anim. Nutr.* 4, 241-249.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D., A. Bach, A., 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 5-26.
- Chaucheyras-Durand, F., Chevaux, E., Martin, C., Forano E., 2012. Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet, in: Rigobelo E.C. (Ed.), *Probiotic in Animals*. InTech, Rijeka, Croatia, pp. 119–162.

- Diao, Q., Zhang, R., Fu, T., 2019. Review of strategies to promote rumen development in 314 calves. *Animals*.9, 490.
- Ding, G., Chang, Y., Zhao, L., Zhou, Z., Ren, L., Meng, Q., 2014. Effect of *saccharomyces cerevisiae* on alfalfa nutrient degradation characteristics and rumen microbial populations of steers fed diets with different concentrate-ratios. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5, 24.
- El-Waziry, A.M., Ibrahim, H.R., 2007. Effect of *saccharomyces cerevisiae* of yeast on fiber digestion sheep fed berseem (*trifolium alexandrinum*) hay and cellulose activity. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 1, 379-385. 14
- FASS, 2010. Federation of Animal Science Societies. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. 3rd ed. Federation of Animal Science Societies. Champaign, IL.
- Fawcett, J. K., Scott, J.E., 1960. A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Pathol.*13, 156-159.
- Ferrario, C., Taverniti, V., Milani, C., Fiore, W., Laureati, M., De Noni, I., Stuknyte, M., Chouaia, B., Riso, P., Guglielmetti, S., 2014. Modulation of fecal Clostridiales bacteria and butyrate by probiotic intervention with *Lactobacillus paracasei* DG varies among healthy adults. *J. Nutr.* 144, 1787–96.
- García-Díaz, T., Braco, A.F., Jacovaci, F.A., Jobim, C.C., Bolson, D.C., Daniel, J.L.P. 2018. Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal parameters, inflammatory response and rumen morphology. *PLoS ONE* 13: e0193313. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193313.t004>.
- Hill, F. N., Anderson, D.L., 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64, 587-603. 337
- Hristov, A.N., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S.K.R., Corl, B., Hovde, C.J., Yoon, I., 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation

- product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 682-692.
- Jin, L., Dong, G., Lei, C., Zhou, J., Zhang, S., 2014. Effects of dietary supplementation of glutamine and mannan oligosaccharides on plasma endotoxin and acute phase protein concentrations and nutrient digestibility in finishing steers, *J. Appl. Anim. Res.* 42, 160-165.
- Khadem. A.A., Pahlavan, M., Afzalzadeh, A., Rezaeian, M., 2007. Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation parameters and microbial populations of rumen, total tract digestibility of diet nutrients and on the in situ degradability of alfalfa in Iranian Chall sheep. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10, 590-597.
- Kowalik, B., Michałowski, T., Pająk, J.J., Taciak, M., Zalewska, M., 2011. The effect of live yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, and their metabolites on ciliate fauna, fibrolytic and amylolytic activity, carbohydrate digestion and fermentation in the rumen of goats. *J. Anim. Feed Sci.* 20, 526-536.
- Krizova, L., Richter, M., Trinacty, J., Ríha, J., Kumprechtova, D., 2011. The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by new wireless devise. *Czech. J. Anim. Sci.* 56, 37-45.
- Landers, T., Cohen, B., Wittum, T.E., Larson, E.L., 2012. A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Pub. Health Rpt.* 127, 4-22. 358
- Lettat, A., Noziere, P., Silbergberg, M., Morgavi, D.P., Berger, C., Martin, C., 2012. Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. *B.M.C. Microbiology.* 12, 142-156.
- López-Soto, M.A., Valdés-García, Y.S., Plascencia, A., Barreras, A., Castro-Pérez, B.I., Estrada-Angulo, A., Ríos, F.G., Gómez-Vázquez, A., Corona, L., Zinn, R.A., 2013. Influence of feeding live yeast on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in steers fed a steam-flaked corn-based diet. *Acta Agric. Scand. Section A.* 63, 39-46.

- Markowiak, P., Śliżewska, K., 2018. The role of probiotics, prebiotics, and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog.* 10, 21.
- Modi, C.M., Mody, S.K., Patel, H.B., Dudhatra, G.B., Kumar, A., Sheikh, T.J., 2011. Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *J. Applied Pharm. Sci.* 1, 33-36.
- Niewold, T. A., 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poult. Sci.* 86, 605–609.
- NOM, Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-, 1999. Especificaciones Técnicas Para La Producción, Cuidado Y Uso De Los Animales De Laboratorio 1997. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>
- NRC, 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. National Academy Press. Washington, DC.
- NRC, 2007. Nutrient requirement of small ruminant. Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press. Washington, DC.
- Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J.P., Bayourthe, C., Auclair, E., Newbold, C.J., 2013. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PLoS ONE* 8: e67824. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067824>
- Plascencia, A., Núñez, V., García, Y., A. Barreras, A., López-Soto, A., González-Vizcarra, V., Hernández, A., Urías-Estrada, D., Estrada, A., 2017. Supplemental effects of a standardized mixture of glyconutrients, β -glucan, probiotics and enzymes (Glycozyme) on site and extent of digestion in steers fed a high-energy diet. Congreso Internacional de las Ciencias Agropecuarias. Agrocencias 2017, La Habana Cuba, p.56.
- Radzikowski, D., 2017. Effect of probiotics, prebiotics and synbiotics on the productivity and health of dairy cows and calves. *WSN.* 78, 193-198.

- Salinas-Chavira, J., Montano, M.F., Torrentera, N., Zinn, R.A., 2018. Influence of feeding enzymatically hydrolysed yeast cell wall + yeast culture on growth performance of calf-fed Holstein steers, *J. Appl. Anim. Res.* 46, 327-330.
- SAS, 2007. *User's Guide: Statistics Version 9*, 6th ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Schlachter, S., Chan, K., Marras, S.A.E., Parveen, N., 2017. Detection and differentiation of Lyme spirochetes and other tick-borne pathogens from blood using real-time PCR with molecular beacons. *Methods Mol. Biol.* 1616, 155-170.
- Schlachter, S., Chan, K., Marras, S.A.E., Parveen, N., 2017. Detection and differentiation of Lyme spirochetes and other tick-borne pathogens from blood using real-time PCR with molecular beacons. *Methods Mol. Biol.* 1616, 155–170
- Tripathi, M.K., Karim, S.A., 2011. Effect of yeast cultures supplementation on live weight change, rumen fermentation, ciliate protozoa population, microbial hydrolytic enzymes status and slaughtering performance of growing lamb. *Livest. Sci.* 135, 17-25.
- Tripathi, M.K., Karim, S.A., Chaturvedi, O.H., Verma, D.L., 2008. Effect of different liquid cultures of live yeast strains on performance, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in lambs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)* 92, 631-639.
- Uyeno, Y., Shigemori, S., Shimosato, T., 2015. Effects of prebiotics/prebiotics in cattle health and productivity: Minireview. *Microbes Environ.* 30, 126-132.
- Van den Abbeele, P., Belzer, C., Goosens, M., Kleerebezem, M., de Vos, W.M., Thas, O., de Weirtdt, R., Kerckhof, F-M., Van de Wiele, T., 2013. Butyrate-producing *Clostridium* cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *ISME Journal.* 7, 949-961.
- Van Soest, P. J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy. Sci.* 74, 3583-3597.

- Williams, P.E.V., Newbold, C.J., 1990. Rumen probiotics: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity, in: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Haresign, W., Cole, D.J.A. (Eds.). Butterworths, London, pp. 211-227.
- Wolin, M.J., 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43, 1452-1459.
- Zheng, C., Li, F., Hao, Z., Liu, T., 2018. Effects of adding mannan oligosaccharides on digestibility and metabolism of nutrients, ruminal fermentation parameters, immunity, and antioxidant capacity of sheep. *J. Anim. Sci.* 96, 284-292.
- Zinn, R.A., 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *J. Anim. Sci.* 68, 776-781.

Table 1. Composition of basal diet and treatments¹

Item	Treatments			
	Control	SC ²	MOS ³	SC+MOS ⁴
Ingredient composition				
Sudan hay	10.00	10.00	10.00	10.00
Cracked corn	70.00	70.00	70.00	70.00
Soybean	9.50	9.50	9.50	9.50
Active Flora®	0	++	0	++
Rumen Yeast®	0	0	++	++
Molasses cane	6.00	6.00	6.00	6.00
Yellow grease	2.00	2.00	2.00	2.00
Trace mineral salt ⁵	2.50	2.50	2.50	2.50
Chemical composition, %DM basis ⁶				
Crude protein	13.43	13.43	13.43	13.43
Starch	62.91	62.91	62.91	62.91
Neutral detergent fiber	15.13	15.13	15.13	15.13
Ash	5.87	5.87	5.87	5.87
Gross energy, Mcal/kg	4.17	4.17	4.17	4.17
Calculated net energy				
Mcal/kg ⁷				
Maintenance	2.10	2.10	2.10	2.10
Gain	1.44	1.44	1.44	1.44

¹ Chromic oxide was added at dose of 30 g/kg as feed basis diet.

² SC = live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3 g /lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC, Active Flora, ICC, Sao Paulo, Brazil).

³ MOS = mannan oligosaccharide, β -glucans and yeast metabolites at dose of 3 g /lamb/day day [MOS; mannan oligosaccharide (35 % w/w) plus β -glucans (20 % w/w), ICC, Sao Paulo, Brazil)].

⁴ SCMOS = supplemented with 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/lamb/day MOS.

⁵ Mineral premix contained: Crude protein 50 %, Calcium, 28 %; Phosphorous, 0.55 %; Magnesium, 0.58 %; Potassium, 0.65 %; NaCl, 15 %; vitamin A, 1100 IU/kg; vitamin E, 11 UI/kg.

⁶ Average dietary composition was determined by analyzing subsamples collected and composited throughout the experiment. Accuracy was ensured by adequate replication with acceptance of mean values that were within 5% of each other.

⁷ Based on tabular net energy (NE) values for individual feed ingredients (NRC, 2007).

Table 2. Oligonucleotides used to RT-PCR amplification and quantitation of HAB microorganism in ruminal fluid samples from ovine/bovine under probiotic/prebiotic treatment.

Bacteria	Primer forward	Primer reverse	Gene	Amplicon
<i>C. sticklandii</i> GenBank NR_102880.1	CCTATCACTGGGATAACACAC	CACCAACAAGCTAATCAGAC	16S ribosomal RNA Position 12- 244	122bp
<i>C. aminophilum</i> strain F GenBank: NR_118651.1	GTAACACGTGGGTAACCTGC	CGCCAAGTAGCTAATCAGAC	16S ribosomal RNA Position: 128- 271	144bp

Table 3. Effect of treatments on apparent total tract digestion.

Item	Treatments ¹				SEM
	Control	SC	MOS	SC+MOS	
Intake					
Dry matter	1140	1140	1140	1140	-
Organic matter	1074	1074	1074	1074	-
Neutral Detergent	173	173	173	173	-
Fiber					
Starch	717	717	717	717	-
Nitrogen	24.50	24.50	24.50	24.50	-
Gross energy, Mcal/d	4.76	4.76	4.76	4.76	-
Total tract digestion, %					
Dry matter	78.59 ^a	80.15 ^{ab}	80.04 ^{ab}	80.99 ^b	0.74
Organic matter	80.99 ^a	82.59 ^{ab}	82.28 ^{ab}	83.06 ^b	0.72
Neutral Detergent	43.16 ^a	43.68 ^a	46.84 ^b	50.41 ^c	0.98
Fiber					
Starch	98.91	99.46	99.28	99.50	0.14
Nitrogen	72.30 ^a	73.92 ^b	73.72 ^b	75.63 ^c	0.46
Digestible energy %	78.79 ^a	81.35 ^b	80.89 ^b	82.24 ^b	0.65
Digestible energy	3.285 ^a	3.392 ^b	3.372 ^b	3.429 ^b	0.038
Mcal/kg					

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

¹SC = live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3 g /lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC, Active Flora, ICC, S~ao Paulo, Brazil); MOS = mannan oligosaccharide, β -glucans and yeast metabolites at dose of 3 g /lamb/day day [MOS; mannan oligosaccharide (35 % w/w) plus β -glucans (20 % w/w), ICC, Sao Paulo, Brazil)], and SC + MOS = supplemented with 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/ lamb/day MOS.

Table 4. Effect of treatments on ruminal, pH, VFA, methane production¹, and N-NH₃².

Item	Treatments ³				SEM
	Control	SC	MOS	SC+MOS	
Ruminal pH	5.61	5.67	5.94	5.95	0.11
Ruminal N-NH ₃ , mg/dL					
2-h post feeding	5.70 ^a	5.63 ^a	3.87 ^b	4.27 ^b	0.28
4-h post feeding	3.98 ^a	3.86 ^a	1.70 ^b	1.93 ^b	0.32
Total VFA, mM	99.1 ^a	108.3 ^b	105.3 ^{ab}	115.89 ^c	2.14
Ruminal VFA, mol/100 mol					
Acetate	51.64	53.10	55.83	55.35	2.02
Propionate	35.27	36.97	34.12	35.38	1.76
Butyrate	13.08 ^a	9.92 ^b	10.04 ^b	9.01 ^b	0.75
Acetate/Propionate	1.47	1.47	1.65	0.57	0.11
Methane Production ⁴	0.41	0.41	0.44	0.43	0.02

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

¹ Ruminal pH and VFA measured at 4 h post-feeding (morning meal).

² Measured at 2 and 4 h post-feeding (morning meal).

³ SC = live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3 g /lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC, Active Flora, ICC, Sao Paulo, Brazil); MOS = mannan oligosaccharide, β -glucans and yeast metabolites at dose of 3 g /lamb/day day [MOS; mannan oligosaccharide (35 % w/w) plus β -glucans (20 % w/w), ICC, Sao Paulo, Brazil], and SC + MOS = supplemented with 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/lamb/day MOS.

⁴ Methane (mol/mol glucose equivalent fermented) estimated based on fermentation balance (Wolin, 1960).

Table 5. Quantification of ruminal bacteria (\log_{10} copies/mL or per g) in lambs fed a control diet or control diet supplemented with prebiotic, probiotic or its combination.

Item	Treatments ¹				SEM
	Control	SC	MOS	SC+MOS	
Ruminal bacteria, \log_{10} copies/mL					
<i>Clostridium aminophilum</i>	8.966 ^a	9.038 ^a	8.884 ^a	8.570 ^b	0.05
<i>Clostridium sticklandii</i>	5.997	5.984	5.554	5.722	0.19

¹ SC = live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3 g /lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC, Active Flora, ICC, Sao Paulo, Brazil); MOS = mannan oligosaccharide, b-glucans and yeast metabolites at dose of 3 g /lamb/day day [MOS; mannan oligosaccharide (35 % w/w) plus b-glucans (20 % w/w), ICC, Sao Paulo, Brazil], and SC + MOS = supplemented with 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/ lamb/day MOS.

CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN INDIVIDUAL O COMBINADA DE PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, ENERGÉTICA DE LA DIETA, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y MASA VISCERAL EN OVINOS FINALIZADOS EN CONDICIONES CLIMÁTICAS SUBTROPICALES

ARTÍCULO 2

The effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on growth performance, dietary energetics, carcass traits, and visceral mass in lambs finished under subtropical climate conditions

Alfredo Estrada-Angulo¹, Octavio Zapata-Ramírez¹, Beatriz I. Castro-Pérez¹, Jesús D. Urías-Estrada¹, Soila Gaxiola-Camacho¹, Claudio Angulo-Montoya¹, Francisco Ríos-Rincón¹, Alberto Barreras², Richard A. Zinn³, José B. Leyva-Morales⁴, Xiomara Perea-Domínguez⁵, and Alejandro Plascencia^{5*}

¹Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan, Sinaloa 80260, Mexico.

²Veterinary Science Research Institute, Autonomous University of Baja California, Mexicali, Baja California 21100, Mexico.

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

⁴Health Sciences Department, University Autonomous of the West, Guasave Unit, 81048, Sinaloa, Mexico.

⁵Natural and Exact Sciences Department, University Autonomous of the West, Guasave Unit, 81048, Sinaloa, Mexico;

*Correspondence: aplas_99@yahoo.com; alejandro.plascencia@uadeo.mx

Publicado en: *Biology*: 2021, 10, 1137.

DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10111137>

3.1 Simple summary

Current interest in limiting the use of conventional antibiotics as feed additives in livestock production, has led to the search for “generally-recognized-as-safe” additive alternatives. Probiotics (living microorganisms) and prebiotics (certain type of carbohydrates derived from yeast) have been shown to alleviate the negative effects of stress and boost immunity, thereby enhancing efficiency of energy utilization. In some regions (i.e. tropical and arid zones), livestock experience adverse climatic conditions, including both elevated ambient temperature and humidity, that affect their productivity. Supplementation with probiotics and prebiotics may help to alleviate the adverse effects of climate. In this study supplemental probiotics and prebiotics improve dietary energetic efficiency in lambs finished under subtropical climatic conditions. The combination of probiotic with prebiotic potentiates this positive effect.

3.2 Abstract

An evaluation of the effects of eubiotic supplementation (probiotic, prebiotic, and their combination) on growth-performance and carcass characteristics in lambs finished under subtropical climate conditions were performed using Pelibuey × Katahdin lambs (29.5±4.8 kg initial live weight) in a 93-d growth-performance experiment. Dietary treatments consisted of a cracked corn-based finishing diet supplemented with: 1) no eubiotics (Control); 2) 3 g of probiotics (live *saccharomyces cerevisiae*, SC), 3) 3 g of prebiotics (mannan oligosaccharide plus β -glucans, MOS), and 4) combination of 1.5 g SC and 1.5 g MOS (SC+MOS). Throughout the study, the average temperature humidity index (THI) was 78.60. Compared to Controls, supplementation with SC or MOS, alone, did not affect average daily gain (ADG), but enhanced 6.3% feed efficiency (gain-to-feed ratio, G:F) and 5.2% dietary net energy. Compared to Controls, SC+MOS enhanced both ADG (10%) and G:F (9.5%), increasing 7.2% dietary net energy. Lambs fed SC+MOS had greater ADG, G:F, and dietary net energy compared to lambs fed SC alone. When compared to MOS, the combination enhanced ADG (10.4%, $P = 0.04$). This effect was due to an increased dry matter intake (7.6%, $P = 0.06$), as neither G:F nor dietary energy were appreciably affected. Compared with Control and SC, supplementation with MOS alone and SC+MOS increased kidney-pelvic-heart fat, while SC supplementation tended ($P = 0.08$) to reduce 4.1% the relative intestinal mass (as

a proportion of empty body weight). Treatment effects on the other carcass measures were not significant. Supplemental eubiotics may improve dietary energetic efficiency in lambs finished under subtropical climate conditions. The combination of probiotic and prebiotic can potentiate this effect.

Key words: probiotics; prebiotics; finishing lambs; performance; carcass; visceral mass.

3.3 Introduction

The use of antibiotics as feed additives for growth promotion is becoming increasingly restrictive [1]. Probiotics and prebiotics have shown promise as alternatives to conventional antibiotic supplementation [2,3]. Probiotics (beneficial living microorganisms) and prebiotics (fiber, cell wall material, mannan polysaccharides derived through hydrolysis of yeast cell walls), named globally as eubiotics, have antimicrobial properties, inhibiting proliferation of enteric pathogens, and may enhance intestinal health [4]. Probiotics and prebiotics have different mechanisms of action that under certain circumstances could be complementary. Accordingly, when the two are supplemented together, the combination is referred to as “synbiotics”. This combination of probiotics with prebiotics resulted in greater reductions in morbidity and mortality of dairy calves than when each were supplemented individually [5]. Under the same climatic conditions in which this experiment was conducted, finishing lambs daily supplemented with a combination of 1.5 g of live *saccharomyces cerevisiae* plus 1.5 g of mannan oligosaccharide had greater total tract digestion of NDF and N, increased ruminal VFA concentration and decreased ruminal concentration of hyper-ammonia ruminal bacteria than when were fed with at dose of 3 g/lamb/day of each eubiotic [6]. Additionally, synbiotic supplementation may induce metabolic changes (increased plasmatic glucose, reduced cortisol levels and reduced cellular oxidative stress) that promote efficiency of energy utilization under conditions of stress [7-9]. These potentiating effects may be of particular benefit to lambs reared in subtropical and tropical environments. However, very limited information is available regarding effects of the combination of probiotics with prebiotics on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics of fattening lambs under conditions of high

ambient temperature and humidity. Accordingly, the objective of this experiment was to evaluate the effects of single or combined dietary supplementation of probiotics and prebiotics on growth-performance, dietary energetics and carcass characteristics in lambs finished under subtropical climatic condition.

3.4 Materials and methods

All animal management procedures were conducted within the guidelines of Federal-locally-approved techniques for animal use and care [10] and approved by the Ethics Committee of Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics from the Autonomous University of Sinaloa (Protocol #23012020).

3.4.1 Experimental location

The experiment was conducted at the Universidad Autónoma de Sinaloa Feedlot Lamb Research Unit, located in the Culiacán, México (24° 46' 13" N and 107° 21' 14"W). Culiacán is about 55 m above sea level, and has a subtropical climate with maximum temperatures of 36°C and minimum of 12°C across the year.

3.4.2 Weather measurement and temperature humidity index (THI) estimation

Climatic variables (ambient temperature and relative humidity) were obtained every hour from on-site weather station (Thermo-hygrometer Avaly, Mod. DTH880, Mofeg S.A., Zapopan, Jalisco). Temperature humidity index (THI) was calculated using the following formula: $THI = 0.81 \times T + (RH/100) \times (T - 14.40) + 46.40$, where: T =temperature expressed Celsius grade, and RH = relative humidity [11].

3.4.3 Animals, diets, and sample analyses

Forty Pelibuey × Katahdin crossbred intact male lambs (29.52 ± 4.79 kg initial live weight) were used in a 93-day growth-performance experiment to evaluate the effects of probiotic, prebiotic and their combination on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics. Two weeks before initiation of the experiment the lambs were treated for parasites (Closantel oral; 7mg/kg, CLOSANTIL® 5%, Laboratorio Chinoin, Mexico, City, Mexico), injected with 2 mL vitamin A (500,000 IU, Synt-ADE®, Zoetis México, México City), and vaccinated for *Mannheimia haemolytica* (One Shot Ultra Zoetis México, México City). Upon initiation of the experiment, lambs were weighed before the morning meal (electronic scale; Torrey, Mod. EQM-400/800, TORREY Electronics Inc, Houston TX, USA), and distributed for similar weight to 20 pens,

where pen was the experimental unit. Dietary treatments were randomly assigned to pens within blocks with two lambs per pen, and 5 replicas per treatment. Pens were 6 m² with overhead shade, automatic waterers and 1 m fence-line feed bunks. Treatments consisted of a cracked corn-based basal total mixed finishing diet (Table 1) supplemented with eubiotics with a total dose of 3 g/lamb/day as follows:

- 1) no eubiotics (Control);
- 2) 3 g live *saccharomyces cerevisiae*/lamb/day (2×10^{10} cfu/g; SC; Active Flora, ICC, São Paulo, Brazil);
- 3) 3 g of mannan oligosaccharide plus b-glucans/lamb/day (MOS; 15% mannan 128 oligosaccharide plus 25% b-glucans, w/w, Rumen Yeast, ICC, São Paulo, Brazil), and
- 4) 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/lamb/day MOS (SC+MOS).

Level of inclusion of probiotic and prebiotic used was based on recommended feed additive label dosage (3 g/lamb/day), the combination SC+MOS was offered at 50% of each additive dose. Lambs were weighed just prior to the morning feeding on days 1 and 93 of the experiment. Live weights (LW) on day 1 were converted to shrunk body weight (SBW) by multiplying LW by 0.96 to adjust for the gastrointestinal fill [12]. All lambs were fasted for 12 h before recording the final LW. Eubiotics were hand-weighed using a precision balance (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, USA), and were premixed for 5 min with minor ingredients (urea, limestone and trace mineral salt) before incorporation into complete mixed diets. The final product was mixed with the rest of ingredients in a 1 m³ capacity horizontal mixer (Davis, H.C. Davis Sons, manufacturers, Bonner Spring, KS, USA). To avoid contamination between treatments, the mixer was thoroughly cleaned between each batch. To ensure additive consumption, the total daily dosage per lamb was incorporated in 300 g of prepared diet provided in the morning feeding (all lambs were fed the basal Control diet in the afternoon feeding). Lambs were provided fresh feed twice daily at 0800 and 1400 h, in which the amount of feed provided in the morning feeding was constant (300g/lamb), while feed delivered in the afternoon feeding was adjusted, allowing for a daily feed residual of refusal of ~50 g/kg. Residual feed was collected between 0740 and 0750 h each morning and weighed. The adjustment to, either increase or decrease daily feed delivery, was provided at the afternoon feeding.

Feed samples were collected from batches of complete mixed diet. Feed refusals were collected daily and composited weekly for dry matter (DM) analysis (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15) [13]. Feed samples were subjected to the following analyses: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15); CP (N× 6.25, method 984.13) by procedures described by AOAC [13], and NDF (corrected for NDF-ash, incorporating heat stable α -amylase; Ankom Technology, Macedon, NY) according to Van Soest et al.[14].

3.4.4 Calculations

Average daily gain (ADG) was computed by subtracting the initial SBW (96% of full weight) [12] from the final SBW and dividing the result by the corresponding number of days on feed. Feed efficiency (weight gain-to-feed intake ratio, G:F) was computed by dividing ADG by the daily dry matter intake (DMI).

One approach for evaluation of the efficiency of dietary net energy (NE) utilization in growth-performance trials is the observed-to-expected dietary NE ratio and the observed-to-expected DMI ratio [16]. Based on measures of growth performance (observed DMI, ADG, and average SBW, Table 3), the observed dietary net energy was calculated for each treatment by means of the quadratic formula according to the procedure from Zinn et al. [16] as follows:

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

Where: x = Observed NEm (Mcal/kg), $a = -0.41EM$, $b = 0.877 EM + 0.41 DMI + EG$, and $c = -0.877 DMI$.

EM= energy required for maintenance (Mcal/d), and EG=energy required for gain (Mcal/d), same which were estimated using equations published by NRC [15] as follows: $EM = 0.056 \times SBW^{0.75}$ and EG (energy gain, Mcal/d) = $0.276 \times ADG \times SBW^{0.75}$, in which the coefficient (0.276) was taken from NRC [17] assuming a mature weight of 113 kg for Pelibuey × Katahdin male lambs [18], and DMI corresponded to the average daily DMI (kg) registered for during the experiment.

Based on expected diet NE concentration calculated using the ingredients composition [15] and measures of growth performance, there is an expected energy intake. This estimation of expected DMI is performed based on observed average ADG and SBW,

and on NE values of the diet exposed in Table 1 following the next equation: expected DMI, kg/d = (EM/NE_m) + (EG/NE_g), where EM= energy required for maintenance (Mcal/d), and EG=energy required for gain (Mcal/d), and NE_m and NE_g divisor are the corresponding NE values based on the ingredient composition of the experimental diet (Table 1).

3.4.5 Carcass characteristics, whole cuts, and shoulder tissue composition.

All lambs were harvested on the same day. Lambs were stunned (captive bolt), exsanguinated and skinned. The gastrointestinal organs were removed and weighed, the omental and mesenteric fat were weighed, and hot carcass weight (HCW) was recorded. After carcasses (with kidneys and internal fat included) were chilled at -2 to 1°C for 24 h, the following measurements were obtained: 1) cold carcass weight (CCW); 2) body wall thickness (distance between the 12th and 13th ribs beyond the ribeye, five inches from the midline of the carcass); 3) measurement of subcutaneous fat (fat thickness) was taken over the 12th to 13th thoracic vertebrae; 4) Longissimus muscle (LM) surface area, measure using a grid reading of the cross-sectional area of the longissimus muscle between 12th and 13th rib, and 5) kidney, pelvic and heart fat (KPH) was removed manually and afterward weighed and reported as a percentage of the cold carcass weight [19]. Carcasses were split into two halves. The left side was fabricated into wholesale cuts, without trimming, according to the North American Meat Processors Association guidelines [20]. Rack, breast, shoulder and foreshank were obtained from the foresaddle, and the loins, flank and leg from the hindsaddle. Weight of each cut was subsequently recorded. The shoulder tissue composition was assessed using physical dissection by the procedure described by Luaces et al. [21].

3.4.6 Visceral mass data

Components of the gastrointestinal tract (GIT), including tongue, esophagus, stomach (rumen, reticulum, omasum, and abomasum), pancreas, liver, gall bladder, small intestine (duodenum, jejunum, and ileum), and large intestine (caecum, colon, and rectum) were removed and weighed. The full GIT tract was then washed, drained, and weighed to get empty weights. The difference between full and washed digesta-free GIT was subtracted from the SBW to determine empty body weight (EBW). All tissue weights are reported on a fresh tissue basis. Organ mass is expressed as grams of

fresh tissue per kilogram of final EBW. Full visceral mass was calculated by the summation of all visceral components (stomach complex + small intestine + large intestine + liver + lungs + heart), including digesta. The stomach complex was calculated as the digesta-free sum of the weights of the rumen, reticulum, omasum and abomasum.

3.4.7 Statistical analyses

Growth performance (weight gain, feed intake, gain efficiency), dietary energetics, carcass data and visceral mass data were analyzed as a randomized complete block design using the MIXED procedure of SAS software [22], where initial weight was the blocking criterion (blocks = 5), and pen was the experimental unit. All the data were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. Hot carcass weight was used as a covariate in evaluation of treatment effects on carcass characteristics and in the analysis of shoulder tissue composition. Treatment means were separated using the “honestly significant difference test” (Tukey’s HSD Test). Treatment effects were considered significant when the value of $P \leq 0.05$, and were identified as trends when the P - value was > 0.05 and ≤ 0.10 .

3.5 Results

Temperature and relative humidity during the course of the experiment are presented in Table 2. The minimum and maximum estimated THI [11] were 70.49 and 86.72, respectively (Table 2). Daily maximal THI exceeded 80 “danger or “emergency” range [23] for a few hours during each day of the 93-d study. During the first 5 weeks of the experiment, the daily THI averaged 76.15. From week 6 through the end of the study daily THI averaged 80.13. The overall daily THI averaged 78.60, corresponding to “alert” conditions [23].

Treatment effects on growth performance and dietary energetic are shown in Table 3. There were no treatment effect ($P > 0.05$) on DMI, averaging 1.17 ± 0.10 kg. Differences in ADG were not different for Control, SC and MOS treatments. However, DMI tended to be lower (7%, $P = 0.09$) for SC and MOS treatments than for Control. Consequently, G:F was greater ($P < 0.01$) for SC and MOS vs the Control. The DMI for SC+MOS was not different ($P = 0.94$) than that of the Control group, but tended to be greater ($P = 0.08$) than supplementation alone. Lambs supplemented with SC+MOS had greater ADG (P

=0.04) and G:F ($P < 0.01$) than Control group. Compared to Controls, supplementation with SC or MOS increased ($P < 0.01$) observed dietary net energy by 5.2%, while with the combination SC+MOS increased the observed dietary net energy by 7.2%. The combination SC+MOS improved ADG ($P = 0.04$), G:F ($P = 0.02$), and dietary energy ($P = 0.04$) compared to SC supplementation. When compared to MOS, the combination enhanced ADG (0.269 vs 0.241 g/d, $p = 0.04$). This effect was mainly due to a tendency for increased DMI (1.213 vs 1.121 kg/d, $P = 0.06$), as neither G:F nor dietary energy were appreciably affected ($P > 0.12$).

Treatment effects on carcass characteristics, shoulder tissue composition, whole cuts, and visceral mass are shown in Tables 4-6. Compared with Control and SC, supplementation with MOS and with SC+MOS increased (8.3%, $P \leq 0.02$) KPH (as percentage of CCW). Compared with Control and SC, the combination SC+MOS increased ($P = 0.02$) visceral fat (g/kg EBW). On the other hand, SC supplementation tended to reduce (4.1%; $P = 0.08$) the relative intestinal mass. Treatment effects on other carcass measures, shoulder tissue composition, and whole cuts were not significant.

3.6 Discussion

The THI ranges are presented in reference to bos taurus cattle [23]. There are no specific codes for lambs, but in wool lambs, the cattle THI codes may be indicative of potentially stressful ambient conditions [16,24,25]. Although Pelibuey breeds and their crosses adapt well to elevated ambient temperatures [26], as THI values climb to above 78 lamb growth performance and energetic efficiency is compromised [27,28]. In the present study, lambs were exposed to a daily average THI of 78 or greater for 61% of the experiment (8/13 weeks).

Decreased DMI is a notable response to elevated high ambient temperatures. In the present study, observed DMI was 5.3% less than predicted based on the intake model for feedlot lambs under thermal neutral conditions [12,16]. However, the expected reduction in DMI for feedlot lambs subjected to an ambient temperature of 30°C is 12% [29]. Although, the DMI of hairy lambs may be less impacted by ambient heat load [30] with no differences in DMI observed for Dorper x Kathahdin lambs during winter or summer months in semi-arid environmental [30,31]. However, Macías-Cruz et al. [27]

observed a moderate DMI reduction (8.3%) when comparing Dorper x Pelibuey lamb growth performance for spring (THI = 68.12) vs summer (THI = 81.80) months in a semi-arid environment.

Responses to supplemental eubiotics in feedlot lambs has been inconsistent. In some cases, supplemental probiotics or prebiotics enhanced DMI and in turn, ADG, whereas, in other studies G:F was enhanced without effect on DMI [32,33]. The basis for these differences in treatment effects on DMI and weight gain, may be associated with the climatic conditions, composition of diets fed, type of eubiotic, and/or levels of supplementation [4]. In the present experiment the average intake of eubiotics was equivalent to 0.07 g of eubiotics/kg LW. This dosage level is within the previously observed effective range for positive growth performance responses to supplemental eubiotics [34,35]. Enhancement of both ADG and G:F without effect on DMI has been a consistent growth performance response in feedlot lambs supplemented with the combination of probiotic with prebiotic [36-38]. Several arguments have been put forward to try to explain the greater benefit obtained with the combination. These include: stabilization of rumen environment, inhibition of pathogenic bacteria along the gastrointestinal tract, modulation of immune response, increase in fibre digestion, and enhanced nutrient uptake [34,35,39]. Additionally, recent studies have reported metabolic changes that may enhance energy efficiency in stressed calves, including: reduced plasma cortisol, NEFA and urea-N concentration, and increased plasma glucose in stressed calves [8]. Reduced cellular oxidative stress has been reported for individuals receiving probiotics-prebiotics combination [7,9]. Under subtropical conditions, enhanced ADG of lambs supplemented with a probiotic-prebiotic combination was associated with increased plasma glucose (13%) and IGF-1 (35%) compared with lambs supplemented separately with either a probiotic or prebiotic [40].

Reduced cellular oxidative stress and NEFA, and increased plasma glucose and IGF-1 are metabolic signals of greater energetic efficiency [41,42]. This is particularly relevant in growing-finishing animals exposed to environmental stressors (i.e., high ambient temperatures). Heat load has been associated with a 7% to 25% increase in maintenance energy requirements of lambs [28], largely due to energy costs for

dissipation of accumulated heat load. In healthy animals grown under non-stressful ambient conditions, the expected ratio of observed-to-expected dietary NE would be 1.0. That is, lamb ADG is consistent with DMI and energy density of the diet. If ratio is greater than 1, the observed dietary NE is greater than anticipated based on diet composition NRC [15], efficiency of energy utilization was enhanced. In contrast, if ratio is less than 1, energetic efficiency was less than expected. Therefore, the estimation of dietary energy intake and the ratio of observed-to-expected DMI reveal differences in efficiency of energy utilization independently of ADG. Accordingly, lambs that received either the SC or MOS treatments utilized dietary net energy as expected, while utilization of dietary net energy by non supplemented lambs was less than expected. Utilization of dietary net energy by lambs supplemented with the combination SC+MOS was also in good agreement with expect. However, their greater DMI may be indicative of enhanced tolerance to conditions of high ambient heat load.

In animals under stress conditions (as in the present experiment) the energy requirements of maintenance may increase [28,43]. This change can be estimated assuming that the change in efficiency of energy retention is affected solely by the increased maintenance coefficient (MQ) as follows: $MQ = (NE_m \times [DMI - \{EG/NE_g\}]) / SBW^{0.75}$, where NE_m corresponds to the NE values of the diet (Table 1) according to NRC [15] tables, and EG = energy requirement for gain. Accordingly, in non-supplemented lambs, elevated THI increased the maintenance coefficient by 16% above of $0.056 \text{ Mcal}/SBW^{0.75}$ specified by standard [17]. This increase is within the expected range of 7 to 25% greater maintenance requirement for heat stressed cattle [28]. Applying the same equation, the estimated maintenance requirement due to SC and MOS treatments decreased 2.6% (0.0545 vs 0.056). Supplementation with SC+MOS decreased the estimated maintenance requirement 8.8% (0.049 vs 0.056). These enhancements are consistent with previously observed positive effects of probiotics plus prebiotics combination supplementation on digestion and fermentation [6,37], as well as improved energy balance in cattle supplemented eubiotics and their combination under conditions of stress [8,9]. From the perspective of efficiency dietary energy utilization for production, the use of eubiotics may be an additional strategy to reduce the negative effects of the high environmental heat load on the productivity of

growing-finishing lamb. Under the conditions in which the experiment was carried out, the use of MOS proved to be more effective than SC. But the combination SC+MOS brought about a greater enhancement in weight gain.

Consistent with previous studies, effects of probiotics or prebiotics supplementation on carcass characteristics [44,45] or wholesale cuts [44,46] of feedlot lambs have been small and non-appreciable [44,47]. However, both supplemental MOS and SC+MOS affected fat depots increasing KPH and visceral fat. The basis for these effects is not clear. In previous studies [45,46], MOS and SC+MOS tended to increase ruminal acetate-to-propionate ratio. Proportionally greater acetate may contribute to increased visceral fat deposition in ruminants [48]. Increased internal fat may also reflect the greater energy retention observed for the lambs receiving eubiotics

Consistent with Belewu and Jimoh [49] and Raghebian et al. [50], there were no treatment effects on stomach complex, liver, heart, kidney, and lung mass. It has been demonstrated that probiotics inhibited the pro inflammatory factors and triggered protective proteins in the intestinal cells reducing inflammation and decreased intestinal wall thickness in mammals [35,51]. Changes in intestinal wall thickness due to SC+MOS was inversely related to broiler health [52]. However, there is little information regarding effects of SC, MOS or their combination on intestinal mass in ruminants fed with high energy diets. García-Díaz et al.[53] reported that the combination of SC+MOS decreased plasma concentrations of inflammatory factors in steers fed a high-grain diets, speculating that this effect could contributing to the reduction of the inflammatory process in the rumen caused by consumption of the grain-based diets. In the present study, SC supplementation tended ($P = 0.08$) to reduce the relative intestinal mass, but MOS and combination SC+MOS did not. Teng and Kim [54] noted that further studies need to be conducted to elucidate the mechanisms of action of probiotics and prebiotics on the gut epithelial integrity and the immune system. The relative reduction on intestinal mass observed in the present study may be evidence of decreased inflammation of the intestinal wall with SC supplementation [35].

3.7 Conclusion

Eubiotics supplementation in finishing lambs under subtropical climatic conditions may help to reduce the negative effects of high ambient heat load on the dietary energy

utilization. Compared to Controls, lambs receiving this source of eubiotics had greater gain efficiency and ratio of observed-to-expected diet net energy, with minimal effects on carcass characteristics, whole cuts and visceral mass. Under condition in which this experiment was carried out, supplemental prebiotic (MOS) proved to be more effective than probiotic (SC), but the combination SC+MOS brought about a greater response in live weight gain. Consequently, the combination of probiotic (SC) plus prebiotic (MOS) appears to potentiate the positive effects of eubiotics.

3.8 Author Contributions: Conceptualization, Alejandro Plascencia; Data curation, Alberto Barreras; Formal analysis, Alberto Barreras; Investigation, Octavio Zapata-Ramírez, Beatriz I. Castro-Pérez, Jesús D. Urías-Estrada, Soila Gaxiola-Camacho, Claudio Angulo-Montoya and Francisco G. Ríos-Rincón; Methodology, Alejandro Plascencia; Supervision, Alfredo Estrada-Angulo and Alejandro Plascencia; Visualization, Alfredo Estrada-Angulo and Alejandro Plascencia; Writing – original draft, José B. Leyva-Morales and Xiomara Perea-Domínguez; Writing – review & editing, Alfredo Estrada-Angulo, Richard A. Zinn and Alejandro Plascencia.

All authors have read and agreed to the final version of the manuscript.

Funding: This project was partially supported by ICC, São Paulo, Brazil, and by GABSA Impexvet, Mexico City, Mexico.

Institutional Review Board Statement: All animal management procedures were conducted within 423 the guidelines of Federal-locally-approved techniques for animal use and care (NOM-051-ZOO-424 1995) and approved by the Ethics Committee of Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics 425 from the Autonomous University of Sinaloa (Protocol # 23012020).

Data Availability Statement: Not applicable.

Disclosure statement: Authors declare no conflict of interest

Acknowledgements: Appreciation is expressed to CONACYT, Mexico, for fellowship support (CVU-708270) to Mr. Octavio Zapata. This project was partially supported by Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan (Project-1759453-7).

3.9 References

1. He, Y.; Yuan, Q.; Mathieu, J.; Satdler, L.; Senehi, N.; Sun, R.; Alvarez, P.J. Antibiotic resistance genes from livestock waste: Occurrence, dissemination, and treatment. *Npj. Clean Water*. 2020, 3, 4; <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0> .
2. Plaza-Díaz, J.; Ruiz-Ojeda, F.J.; Gil-Campos, M.; Gil, A. Mechanism of action of probiotics. *Adv. Nutr.* 2019, 10, 49-66 <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>.
3. Direckvandi, E.; Mohammadabadi, T.; Salem A.Z.M. Oral administration of lactate producing bacteria alone or combined with *Saccharomyces cerevisiae* and *Megasphaera elsdenii* on performance of fattening lambs. *J. Appl. Anim. Res.* 2020, 48, 235-243; <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1773830>.
4. Nawab, A.; Liu, W.; Li, G.; Ibtisham, F.; Fox, D.; Zhao, Y.; Wo, J.; Xiao, M.; Nawab, Y. An L. The Potential Role of Probiotics (nutraceuticals) in Gut Health of Domestic Animals; an Alternative to Antibiotic Growth Promoters. *J. Hellenic Vet. Med. Soc.* 443 2019, 69, 1169-1188; <http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.19600>.
5. Radzikowski, D. Effect of probiotics, prebiotics and synbiotics on the productivity and health of dairy cows and calves. *WSN* 2017, 78,193-198; <http://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>.
6. Zapata, O.; Cervantes, A.; Barreras, A.; Monge-Navarro, F.; González-Vizcarra, V.M.; Estrada-Angulo, A.; Urías-Estrada, J.D.; Corona, L.; Zinn, R.A.; Martínez-Alvárez, I.G.; Plascencia, A. Effects of single or combined supplementation of probiotics and 448 prebiotics on ruminal fermentation, ruminal bacteria and total tract digestion in lambs. *Small Rum. Res.* under review.

7. Kleniewska, P.; Pawliczak, R.B. Influence of Synbiotics on Selected Oxidative Stress. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017, Article ID 450 9315375; <http://dx.doi.org/10.1155/2017/9315375>.
8. López-Valencia, G.; Zapata-Ramírez, O.; Núñez-González, L.; Núñez-Benítez, V.; Landeros-López, H.; López-Soto, M.A; Barreras, A.; González, V.; Estrada-Angulo, A.; Zinn, R.A.; Plascencia, A. Effective use of probiotic-glyconutrient combination as an adjuvant to antibiotic therapy for diarrhea in rearing dairy calves. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 2017, 41, 578-581; <http://doi.org/10.3906/vet1701-54.455>
9. Zheng, C.; Li F.; Hao, Z.; Liu, T. Effects of adding mannan oligosaccharides on digestibility and metabolism of nutrients, ruminal fermentation parameters, immunity, and antioxidant capacity of sheep. *J. Anim. Sci.* 2018, 96, 284-292; <https://doi.org/10.1093/jas/skx040>.
10. NOM. Normas Oficiales Mexicanas. Diario Oficial de la Federación. 1995. (NOM-051-ZOO-1995, NOM-033-ZOO-1995) Trato humanitario de animales de producción, de compañía y animales silvestres durante el proceso de crianza, desarrollo de experimentos, movilización y sacrificio. Available <<http://dof.gob.mx/>> [Accesed on August 7 2020 .1995.
11. Dikmen, S.; Hansen, P.J.; Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 109-116; <http://doi.org/10.3168/jds.2008-1370>.
12. Cannas, A.; Tedeschi, L.O.; Fox, D.G.; Pell, A.N.; Van Soest, P.J. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. *J. Anim. Sci.* 2004, 82, 149-169; <http://doi.org/102527/2004821149>
13. Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analysis, 17th ed.; Association of Official Analytical Chemists (AOAC): Washington, DC, USA, 2000.
14. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2) .

15. National Research Council. Nutrient requirement of small ruminant. Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Science (NRC), Washington, DC. 2007.
16. Zinn, R.A.; Barreras, A.; Owens, F.N.; Plascencia, A. Performance by feedlot steers and heifers: ADG, mature weight, DMI and dietary energetics. *J. Anim. Sci.* 2008, 86, 1-10; <http://doi.org/102527/jas2007-0561>
17. National Research Council. Nutrient requirement of sheep. 6th (Revised edition), National Academy Science (NRC), Washington, DC. 1985.
18. Canton, G. J. ; Bores, Q. R. ; Baeza, R. J. ; Quintal, F. J. ; Santos, R. R. ; Sandoval, C. C. Growth and feed efficiency of pure and f1 pelibuey lambs crossbred with specialized breeds for production of meat. *J. Anim. Vet. Adv.* 2009, 8, 26-32.
<https://www.medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2009.26.32>.
19. Official United States Standards for Grades of Carcass Lambs, Yearling Mutton and Mutton Carcasses. Agric. Marketing Serv. (USDA) Washington, D.C.; 1992.
20. Meat Buyers Guide. North American Meat Processor Association, John Willey and Sons, Inc. (NAMP), Hoboken, New Jersey. 2007.
21. Luaces, M.L.; Calvo, C.; Fernández, B.; Fernández, A.; Viana, J.L.; Sánchez, L. Predicting equation for tisular composition in carcass of Gallega breed lambs. *Arch. Zoot.* 2019, 57, 3-14. <https://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922011000400028>.
22. Statistical Analytical System. Institute Inc. SAS proprietary software release 9.3. SAS Institute Inc. (SAS), Cary, N.C.; 2004.
23. Mader, T.L.; Davis, M.S.; Brown-Brandl, T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2006, 84, 712-719; <http://doi.org/10.2527/2006.843712x>.
24. Silanikove, N. Effects of heat stress on the welfare of the extensively managed domestic ruminants. *Liv. Sci.* 2000, 67, 1-18. [https://doi.org/10.1016/S03016226\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/S03016226(00)00162-7).
25. Habebb, A.A.; Gad, A.E.; Atta, M.A. Temperature-humidity index as indicators to stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of

- farm animals. *Intl. J. Biotech. Res. Adv.* 2018, 1, 35-50; <http://doi.org/10.18689/ijbr-1000107>.
26. Romero, R. D.; Montero-Pardo, A.; Montaldo, H.H.; Rodriguez, A.D.; Hernández-Cerón, J. Differences in body temperature, cell viability and HSP-70 concentrations between Pelibuey and Suffolk sheep under heat stress. *Trop. Anim. Health Prod.* 2013, 45, 1691-1696. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0416-1>.
27. Macías-Cruz, U.; Avendaño-Reyes, L.; Álvarez-Valenzuela, F.D.; Torrentera-Olivera, N.G.; Meza-Herrera, C.A.; Mellado-Bosque, M.; Correa-Calderón, A. Crecimiento y características de canal en corderas tratadas con clorhidrato de zilpaterol durante primavera y verano. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 2013, 4, 1-12. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S20071124201300100001.
28. Vicente-Pérez, V.R.; Macías-Cruz, U.; Avendaño-Reyes, L.; Correa-Calderón, A.; López-Vaca, M.A.; Lara-Rivera, A.L. Heat stress impacts in hair sheep production. *Review. Rev Mex. Cienc. Pecu.* 2020, 11, 205-222; <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4923>.
29. O'Brien, M.D.; Rhoads, R.P.; Sanders, S.R.; Duff, G.C.; Baumgard, H. Metabolic adaptation to heat stress in growing cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2010, 38, 89-94; <http://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.08.005>.
30. Nicolás-López, P.; Macías-Cruz, U.; Mellado, M.; Correa-Calderón, A.; Meza-Herrera, C.A.; Avendaño-Reyes, L. Growth performance and changes in physiological, metabolic and hematological parameters due to outdoor heat stress in hair breed male lambs finished in feedlot. *Int. J. Biometeorol.* 2021, doi: 10.1007/s00484-021-02116-x
31. Macías-Cruz, U.; Saavedra, O.R.; Correa-Calderón, A.; Mellado, M.; Torrentera, N.G.; Chay-Canul, A.; López-Baca, M.A.; Avendaño-Reyes, L. Feedlot growth, carcass characteristics and meat quality of hair breed lambs exposed to seasonal heat stress (winter vs. summer) in an arid climate. *Meat Sci.* 2020, 169, 108202. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108202>

32. Saleem, A.M.; Zounouy, A.I.; Singer, A.M. Growth performance, nutrients digestibility, and blood metabolites of lambs fed diets supplemented with probiotics during pre- and post-weaning period. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2017, 30, 523-530; <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0691.511>
33. Hassan, A.; Gado, H.; Anele, U.Y.; Berasain, M.A.M.; Salem, A.Z.M. Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, nutrient utilization, ruminal fermentation activities and methane production in growing lambs. *Anim. Biotechnol.* 2020; 31, 365-372. <https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1604380>
34. Markowiak, P.; Śliżewska, K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients.* 2017, 9, 1021-1050; <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
35. Anadón, A.; Ares, I.; Martínez-Larrañaga, M.R.; Martínez, M.A. Prebiotics and probiotics in feed and animal health. In *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*, Gupta R.C.; Srivastava, A.; Lall, R. (Eds.); Springer Switzerland AG, 2019; pp 261-285.
36. Moarrab, A.; Ghoorchi, T.; Ramezanzpour, S.; Ganji, F.; Koochakzadeh, A.R. Effect of synbiotic on performance, intestinal morphology, fecal microbial population and blood metabolites of suckling lambs. *Iranian J. Anim. Sci.* 2016, 6, 621-628. http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_524633.html .
37. Ayala-Monter, M.A.; Hernández-Sánchez, D.; González-Muñoz, S.; Pinto-Ruiz, R.; Martínez-Aispuro, J.A.; Torres-Salado, N.; Herrera-Pérez, J.; Gloria-Trujillo, A. Growth performance and health of nursing lambs supplemented with inulin and 523 *Lactobacillus casei*. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2019, 32, 1137-1144. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0630>
38. Jonova, S.; Ilgaza, A.; Zolovs, M.; Balins, A. Impact of inulin and yeast containing synbiotic on calves' productivity and greenhouse gas production. *Vet. World.* 2020, 13, 1017-1024; <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1017-1024>
39. Arowolo, M.A.; He, J. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Anim. Nutr.* 2018, 4, 241-249; <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>.
40. El-Mehanna, S.F.; Abdelsalam, M.M.; Hashem, N.M.; El-Azrak, K.E.M.; Mansour, Zeitoun M.M. Relevance of probiotic, prebiotic and synbiotic

- supplementations on hemato-biochemical parameters, metabolic hormones, biometric measurements and carcass characteristics of sub-tropical Noemi lambs. *Int. J. Anim. Res.* 2017, 1, 10. <https://doi.org/10.28933/ijar-2017-09-3001>.
41. Omari, M.; Lange, A.; Plöntzke, J.; Röblitz, S. Model-based exploration of the impact of glucose metabolism on the estrous cycle dynamics in dairy cows. *Biology Direct.* 2020, 15, 2. <https://doi.org/10.1186/s13062-019-0256-7>.
42. Chauhan, S.S.; Rashamol, V.P.; Bagath, M.; Sejian, V.; Dunshea, F.R. Impacts of heat stress on immune responses and oxidative stress in farm animals and nutritional strategies for amelioration. *Int. J. Biometeorol.* 2021, <https://doi.org/10.1007-s00484-021-02083-3>.
43. National Research Council. Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals (NRC). National Academy Press, Washington, DC. 1981.
44. Whitley, N.C.; Cazac, D.; Rude, B.J.; Jackson-O'Brien, D.; Parveen, S. Use of commercial probiotic supplement in meat goats. *J. Anim. Sci.* 2009, 87, 723-728; <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-1031>.
45. Anele, U.Y.; Engel, C.L.; Swanson, K.C.; Baines, D. Effects of synbiotics on rumen fermentation. *J. Anim. Sci.* 2017, 95 (Suppl. 4), 300-301; <https://doi.org/10.2527/asasann.2017.614>.
46. Sosa, A.; Saro, C.; Mateos, I.; Díaz, A.; Galindo, J.; Carro, M.D.; Ranilla, M.J. Effects of *Aspergillus oryzae* on ruminal fermentation of an alfalfa hay: concentrate diet using the rumen simulation technique (Rusitec). *Cuban J. Agric. Sci.* 2020, 54, 183-192. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193015662010.pdf>.
47. Zerby, H.N.; Bard, J.L.; Loerch, S.C.; Kuber, P.S.; Radunz, A.E.; Fluharty, F.L. 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.* 2011, 89, 2257-2264; <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2010-3308>.
48. Ladeira, M.M.; Schoonmaker, J.P.; Swanson, K.C.; Duckett, S.K.; Gionbelli, M.P.; Rodrigues L.M.; Teixeira, P.D. Review: Nutrigenomics of marbling and

- fatty acid profile in ruminant meat. *Animal*. 2018, 12:282–294; <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731118001933>.
49. Belewu, M.A.; Jimoh, N.O. Blood, Carcass and organ measurement as influenced by *Aspergillus niger* treated cassava wastes in the diets of WAD goats. *Glob. J. Agric. Sci.* 2005, 4, 125-128; <http://dx.doi.org/10.4314/gjass.v4i2.2260>.
50. Raghebian, M.; Dabiri, N.; Yazdi, A.B.; Bahrani, M.J.; Shomeyzi, J.; Raghebian, A.; Hatami, P. Probiotic effect on meat quality 554 and carcass parameters of iranian Zandi lambs. *J. Livest. Sci.* 2017, 8, 163-168. <http://livestockscience.in/wp-content/uploads/energyheatstrssbrooilIran.pdf>.
51. Alayande, K.A.; Aiyegoro, O.A.; Ateba, C.N. Probiotics in animal husbandry: applicability and associated risk factors. *Sustainability*. 2020, 12, 1087. <https://doi.org/10.3390/su12031087>.
52. Al-Baadani, H.H.; Abusabos, A.M.; Al-Mufarrej, S.I.; Alzawqari, M. Effects of dietary inclusion of probiotics and symbiotics on intestinal histological changes in challenged broiler chickens. *South Afr. J. Anim. Sci.* 2016, 46, 157-165. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v46i2.6>.
53. García-Díaz, T.; Branco, A.F.; Jacovaci, F.A.; Jobim, C.C.; Daniel, J.L.P.; Bueno, A.V.; Ribeiro, M.G. Use of live yeast and mannan-oligosacharides in grain-based diets for cattle: Ruminal parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. *PLoS ONE*. 2018, 13:e0207127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207127>.
54. Teng, P-Y.; Kim, W.K. Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. *Frontiers Vet. Sci.* 2018, 5, 245. <http://doi:10.3389/fvets.2018.00245>.

Table 1. Composition of experimental diets offered ad libitum to the lambs

Item	Treatments			
	Control	SC ¹	MOS ²	SC+MOS ³
Ingredient composition%				
Sudan hay	10.00	10.00	10.00	10.00
Cracked corn	70.00	70.00	70.00	70.00
Soybean	9.50	9.50	9.50	9.50
Active Flora®	0	++	0	++
Rumen Yeast®	0	0	++	++
Molasses cane	5.00	5.00	5.00	5.00
Yellow grease	3.00	3.00	3.00	3.00
Trace mineral salt ⁴	2.50	2.50	2.50	2.50
Chemical composition, (%DM basis) ⁵				
Crude protein	13.43	13.43	13.43	13.43
Starch	52.91	52.91	52.91	52.91
Neutral detergent fiber	15.13	15.13	15.13	15.13
Ash	5.87	5.87	5.87	5.87
Gross energy, Mcal/kg	4.17	4.17	4.17	4.17
Calculated net energy Mcal/kg ⁶				
Maintenance	2.15	2.15	2.15	2.15
Gain	1.49	1.49	1.49	1.49

¹ SC= live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3g /lamb/day (LSC; ActiveFlora, ICC, Brazil).

² MOS= mannan oligosaccharide, b-glucans and yeast metabolites at dose of 3g /lamb/day (MOS, B-Glucans and yeast metabolites; RumenYeast, ICC, São Paulo, Brazil).

³ SC+MOS= supplemented with 1.5 g/lamb/day LSC plus 1.5 g/lamb/day MOS.

⁴ Protein-mineral premix contained: Crude protein 50% urea based, Calcium, 28%; Phosphorous, 0.55%; Magnesium, 0.58%; Potassium, 0.65%; 168 NaCl, 15%; vitamin A, 1,100 IU/kg; vitamin E, 11 UI/kg.

⁵ Dietary composition was determined by analyzing subsamples collected and composited throughout the experiment. Accuracy was ensured by adequate replication with acceptance of mean values that were within 5% of each other.

⁶ Calculated from tabular net energy (NE) values for individual feed ingredients [15].

Table 2. Ambient temperature (Ta), relative humidity (RH) and calculated temperature-humidity index (THI)¹ registered every hour and expressed as a weekly average.

Week	Mean T _a (°C)	Min T _a (°C)	Max T _a (°C)	Mean RH (%)	Min RH (%)	Max RH (%)	Mean THI ¹	Min THI	Max THI
1	29.49±0.9	19.33±1.4	33.62±0.5	29.38±1.2	24.18±0.3	44.21±2.7	74.53±0.8	63.25±1.5	82.03±1.5
2	28.64±1.0	18.83±1.3	33.10±0.8	28.43±1.3	23.89±0.8	40.18±2.4	73.44±0.9	62.68±1.4	80.59±0.9
3	28.29±1.1	18.61±0.9	34.24±0.3	30.57±1.7	23.50±0.2	47.68±2.6	73.22±1.0	62.47±0.9	83.59±0.6
4	27.90±0.9	19.76±0.7	33.12±0.3	38.21±2.6	27.14±0.8	61.14±2.7	73.73±0.8	63.89±0.8	84.63±0.5
5	29.63±1.0	20.12±0.9	35.29±0.3	29.62±1.7	22.86±0.3	46.79±3.5	74.61±0.9	64.02±1.0	84.71±0.7
6	30.35±0.9	22.26±0.9	35.24±0.4	32.38±1.8	25.61±0.8	48.57±3.6	75.90±0.8	66.47±1.0	84.98±0.6
7	31.75±0.9	23.13±1.0	36.84±0.4	28.50±1.5	23.18±0.6	41.28±2.4	76.81±0.8	67.11±1.0	85.56±0.5
8	32.17±0.7	25.13±0.9	36.14±0.6	31.71±1.7	25.14±0.6	51.57±3.7	77.97±0.5	69.49±0.9	86.85±0.7
9	32.73±0.8	24.24±0.9	36.97±0.3	33.17±2.0	25.29±0.6	51.61±2.9	78.70±0.7	68.51±0.9	87.93±0.5
10	30.53±1.7	24.19±0.9	36.46±0.4	33.00±1.7	26.07±0.9	48.79±3.4	76.31±1.8	68.60±1.0	86.59±0.5
11	33.17±0.7	26.77±0.7	37.18±0.3	36.86±1.9	27.68±0.9	54.89±2.3	80.04±0.5	71.57±0.8	89.10±0.4
12	33.40±0.6	27.54±0.5	36.90±0.3	36.19±1.7	28.75±0.5	53.43±2.0	80.21±0.5	72.54±0.6	88.38±0.2
13	32.38±0.8	27.21±0.6	35.58±0.9	41.40±2.4	33.32±2.2	59.68±3.7	79.72±0.6	72.60±0.6	87.61±1.1
Mean	30.80±0.5	22.86±0.9	35.44±0.4	33.03±1.1	25.89±0.8	49.99±1.8	76.55±0.7	67.17±1.0	85.58±0.7

¹THI code (normal THI <74; alert 75 to 79; danger 79 to 84; and emergency >84).

Table 3. Effect of treatments on growth-performance and dietary energy utilization of finishing lambs supplemented during 93-d with eubiotics alone or combined.

Item	Treatments ¹				SEM	<i>p</i> -value					
	None	SC	MOS	SC+MOS		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Days on test	93	93	93	93							
Pen replicates	5	5	5	5							
Live weight, kg/d ²											
Initial	29.50	29.52	29.48	29.59	0.13	0.91	0.91	0.70	0.82	0.78	0.62
Final	51.99	51.79	51.86	54.56	0.80	0.86	0.90	0.04	0.95	0.03	0.03
Average daily gain, kg/d	0.242	0.241	0.241	0.269	0.008	0.84	0.93	0.04	0.91	0.03	0.04
Dry matter intake, kg/d	1.210	1.130	1.121	1.213	0.031	0.09	0.06	0.94	0.84	0.08	0.06
Feed efficiency (G:F), kg/kg	0.201	0.213	0.216	0.222	0.004	0.01	0.01	<0.01	0.36	0.02	0.12
Observed dietary net energy, Mcal/kg											
Maintenance	2.06	2.16	2.19	2.22	0.024	<0.01	<0.01	<0.01	0.33	0.04	0.22
Gain	1.40	1.48	1.51	1.54	0.021	<0.01	<0.01	<0.01	0.33	0.04	0.22
Observed to expected diet NE ²											
Maintenance	0.958	1.005	1.018	1.032	0.012	<0.01	<0.01	<0.01	0.33	0.04	0.22
Gain	0.940	0.993	1.013	1.034	0.011	<0.01	<0.01	<0.01	0.33	0.04	0.22
Observed to expected DMI	1.054	0.999	0.984	0.968	0.009	<0.01	<0.01	<0.01	0.33	0.04	0.22

¹ SC= live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3g /lamb/day (LSC; ActiveFlora, ICC, São Paulo, Brazil); MOS= mannan oligosaccharide, b-glucans and yeast metabolites at dose of 3g /lamb/day (MOS, B-Glucans and yeast metabolites; RumenYeast, ICC, São Paulo, Brazil), and SC+MOS= supplemented with 1.5 g/lamb/day LSC plus 1.5 g/lamb/day MOS.

² Initial and final shrunk weight is the full live weight reduced 4% to adjustment for gastrointestinal fill.

Table 4. Effect of treatments on carcass characteristics of finishing lambs supplemented during 93-d with eubiotics alone or combined

Item	Treatments ¹				SEM	<i>p</i> -value					
	None	SC	MOS	SC+MOS		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Hot carcass weight, kg	30.37	30.16	30.07	31.63	0.65	0.83	0.75	0.20	0.92	0.14	0.12
Dressing percentage	58.42	58.24	58.35	57.99	0.45	0.70	0.89	0.36	0.81	0.58	0.43
Cold carcass weight, kg	29.98	29.73	29.68	31.22	0.64	0.78	0.74	0.20	0.93	0.15	0.11
LM area, cm ²	21.17	20.72	20.96	21.46	0.51	0.58	0.82	0.63	0.68	0.24	0.51
Fat thicknes ² , cm	0.294	0.286	0.299	0.287	0.13	0.67	0.78	0.74	0.49	0.93	0.54
Kidney pelvic and heart fat, %	2.88	2.87	3.17	3.11	0.07	0.85	0.02	0.04	<0.01	0.03	0.52
Shoulder composition %											
Muscle	63.28	63.20	62.60	63.24	0.67	0.98	0.53	0.97	0.54	0.98	0.55
Fat	18.50	18.88	18.26	18.78	0.60	0.71	0.78	0.75	0.53	0.96	0.55
Muscle to fat ratio	3.45	3.37	3.50	3.38	0.15	0.69	0.83	0.73	0.54	0.95	0.58

1 SC= live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3g /lamb/day (LSC; ActiveFlora, ICC, São Paulo, Brazil); MOS= mannan oligosaccharide, b-glucans and yeast metabolites at dose of 3g /lamb/day (MOS, b-Glucans and yeast metabolites; RumenYeast, ICC, São Paulo, Brazil), and SC+MOS= supplemented 312 with 1.5 g/lamb/day LSC plus 1.5 g/lamb/day MOS. 313

2 Fat thickness over the center of the LM between of 12th and 13th ribs.

Table 5. Effect of treatments on whole cuts of finishing lambs supplemented during 93-d with eubiotics alone or combined.

Item	Treatments ¹				SEM	<i>p</i> -value					
	None	SC	MOS	SC+MOS		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Whole cuts (as % of CCW)	10.55	10.64	10.61	10.54	0.45	0.88	0.93	0.99	0.96	0.88	0.91
Shoulder IMPS207	15.61	15.45	15.28	15.36	0.20	0.58	0.25	0.39	0.54	0.75	0.76
Shoulder IMPS206	8.21	7.68	7.94	7.91	0.26	0.11	0.45	0.41	0.33	0.35	0.95
Leg IMPS233	25.98	25.43	24.96	25.97	0.50	0.39	0.16	0.99	0.46	0.39	0.17
Loin IMPS231	7.46	7.84	7.40	7.36	0.24	0.32	0.87	0.77	0.25	0.21	0.90
Rack IMPS204	7.73	7.49	7.63	7.69	0.25	0.52	0.92	0.90	0.59	0.60	0.99
Flank IMPS232	6.50	6.59	6.37	6.27	0.19	0.74	0.63	0.41	0.42	0.26	0.73
Breast IMPS209	3.76	3.62	3.81	4.04	0.33	0.29	0.87	0.36	0.21	0.11	0.45

¹ sc= live *saccharomyces cerevisiae* at dose of 3g /lamb/day (lsc; activeflora, icc, são paulo, brazil); mos= mannan oligosaccharide, b-glucans and yeast metabolites at dose of 3g /lamb/day (mos, b-glucans and yeast metabolites; rumenyeast, icc, são paulo, brazil), and sc+mos= supplemented with 1.5 g/lamb/day lsc plus 1.5 g/lamb/day mos.capitulo

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES GENERALES

1. El uso de eubióticos se posiciona como una alternativa prometedora en la producción pecuaria, ya que su origen es totalmente natural y globalmente son considerados como seguros para su uso en animales y humanos.
2. Su uso ha demostrado resultados positivos en las características ruminales, mejora la salud de las paredes del epitelio ruminal, mejora la degradación de FDN Y MO favoreciendo la disponibilidad de energía, disminuye las concentraciones de NH_3 , regula el pH disminuyendo problemas metabólicos como la acidosis ruminal, ayudando a disminuir la incidencia de abscesos hepáticos.
3. Los resultados obtenidos en las pruebas de comportamiento productivo ha sido variables, esto atribuido a la gran cantidad de productos disponibles, dosis, almacenamiento entre muchos otros factores, sin embargo, se han observado resultados positivos incrementando el CMS y por ende la GDP y eficiencia alimenticia. Los resultados se han observado más contundentes cuando las dietas no son elevadas en proteína.
4. El uso de eubióticos en los animales ha demostrado un efecto positivo en la salud, su metabolismo y sistema inmune.
5. Aparentemente los probióticos y prebióticos tienen un mecanismo de acción y resultado similar, sin embargo, existen características específicas de las distintas cepas de microorganismos y de los sacáridos simples, que hacen una gran alternativa el utilizar ese sinergismo con la finalidad de potenciar sus resultados, por ello, el estudio de las combinaciones y su uso adecuados por etapas y especies puede resultar en un gran avance para la producción animal.

CAPÍTULO 5. LITERATURA CITADA

- Adhikari P. y Kim W. K. 2017. Overview of Prebiotics and Probiotics: Focus on Performance, Gut Health and Immunity – A Review. *Annals of Animal Science*. Vol: 17, No. 4; 949–966
- Akram M. Z., Asghar M. U. y Jalal, H. 2021. Essential oils as alternatives to chemical feed additives for maximizing livestock production. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. Vol: 72 (1), 2595-2610.
- Alayande K. A., Aiyegoro O. A. y Ateba C. N. 2020. Probiotics in animal husbandry: applicability and associated risk factors. *Sustainability*. Vol: 12 (3), 1087.
- Aldoori Z. T. y Al-Obaidi A. S. A. 2018. Effect of different levels of commercial *Saccharomyces cerevisiae* with the ration on some carcass characteristics of awassi lambs. *Adv. Anim. Vet. Sci*. Vol: 6; 10, 462-466.
- Al-Jaf K. A. H. y Del, Y. K. 2019. Effect of different feed additives on growth performance and production in livestock. *Int. J. Agric. For*. Vol: 9, 16-31.
- Atlas Agroalimentario. 2020. Edición, 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Bagheri M., Ghorbani G. R., Rahmani H. R., Khorvash M., Nili N. y Sudekum K. H. 2009. Effect of live yeast and mannan-oligosaccharides on performance of early-lactation Holstein dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol: 22 (6), 812-818.
- Bakr H. A., Hassan M. S., Giadinis N. D., Panousis N., Ostojić-Andrić D., Abd E. T. M. y Bojkovski J. 2015. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on health and performance of dairy cows during transition and early lactation period. *Biotechnology in animal husbandry*. Vol: 31 (3), 349-364.
- Balci F., Dikmen S., Gencoglu H., Orman A., Turkmen I. I. y Biricik, H. 2007. The effect of fibrolytic exogenous enzyme on fattening performance of steers. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. Vol: 10 (2), 113-118.

- Beauchemin K.A., Yang W. Z., Morgavi D.P., Ghorbani G.R., Kautz W. y Leedle J.A.Z. 2003. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* Vol: 81:1628–1640.
- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A. V., Fraser G. R., Colombatto D., McAllister T. A. y Beauchemin K. A. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology.* Vol: 145 (1-4), 209-228.
- Bennett J.W. 1998. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. *J. Biotechnol.* Vol: 66, 101–107.
- Bomba A., Nemcová R., Gancarcíková S., Herich R., Guba P. y Mudronová D. 2002. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr.* 88 Suppl 1: S95-S99.
- Cai L., Yu J., Hartanto R. y Qi D. 2021. Dietary supplementation with *Saccharomyces cerevisiae*, *Clostridium butyricum* and their combination ameliorate rumen fermentation and growth performance of heat-stressed goats. *Animals.* Vol: 11 (7), 2116.
- Callaway E. S. y Martin S. A. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *Journal of Dairy Science.* Vol: 80 (9), 2035-2044.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P. W., Castillejos L. y Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.* Vol: 90 (6), 2580-2595.
- Castro-Pérez B. I., Núñez-Benítez V. H., Estrada-Angulo A., Urías-Estrada J. D., Gaxiola-Camacho S. M., Rodríguez-Gaxiola M. A., Angulo-Montoya C., Barreras A., Zinn R. A., Perea-Domínguez X. P. y Plascencia A. 2021. Evaluation of standardized mixture of synbiotic-glyconutrients supplemented in

- lambs finished during summer season in tropical environment: Growth performance, dietary energetics, and carcass characteristics. *Canadian Journal of Animal Science*, Abstract. doi.org/10.1139/CJAS-2020-0202.
- Chaucheyras-Durand, F., Chevaux, E., Martin, C. y Forano E., 2012. Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet, in: Rigobelo E.C. (Ed.), *Probiotic in 312 Animals*. InTech, Rijeka, Croatia, pp. 119–162.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D. y Bach, A., 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* Vol: 145, 5-26.
- Chaves A. V., He M. L., Yang W. Z., Hristov A. N., McAllister T. A. y Benchaar, C. 2008. Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Canadian Journal of Animal Science*. Vol: 88 (1), 117-122.
- Chuang W. Y., Hsieh Y. C. y Lee T. T. 2020. The effects of fungal feed additives in animals: A review. *Animals*. Vol: 10 (5), 805.
- COMECARNE, (2020). Compendio estadístico 2019. URL: https://comecarne.org/wp-content/uploads/2020/05/Compendio_Estadistico_2019.pdf
- Dalloul, R.A., y H.S. Lillehoj. 2005. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. *Avian Dis.* Vol: 49:1–8.
- DiLorenzo N., Smith D. R., Quinn M. J., May M. L., Ponce C. H., Steinberg W., Engstrom M.A. y Galyean, M. L. 2010. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livestock Science*. Vol: 137(1-3), 178-184.
- Dobrevá E., Ivanova V. y Emanuilova E. 1994. Effect of temperature on some characteristics of the thermostable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis*. *World J. Microb. Biotech.* Vol: 10: 547-550.

- Drouillard J. S. 2018. Current situation and future trends for beef production in the United States of America. A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol: 31: 7; 1007-1016
- Elghandour M.M.Y., Kholif A.E., López S., Mendoza G.D., Odongo N.E. y Salem A.Z.M. In vitro gas, methane, and carbon dioxide productions of high fibrous diet incubated with fecal inocula from horses in response to the supplementation with different live yeast additives. *J. Equine Vet. Sci*. Vol: 38, 64–7
- El-Trwab A., Youssef I. M., Bakr H. A., Fthenakis G. C. y Giadinis N. D. 2016. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. Vol: 19 (4).
- El-Waziry A.M. e Ibrahim H.R. 2007. Effect of *saccharomyces cerevisiae* of yeast on fiber digestion sheep fed berseem (*trifolium alexandrinum*) hay and cellulose activity. *Aust. J. Basic Appl. Sci*. Vol: 1, 379-385. 14
- Estrada-Angulo A., Arteaga-Wences Y. J., Castro-Pérez B. I., Urías-Estrada J. D., Gaxiola-Camacho S., Angulo-Montoya C., Ponce-Barraza E., Barreras A., Corona L., Zinn R. A., Leyva-Morales J. B., Perea-Domínguez X. P. y Plascencia A. 2021. Blend of Essential Oils Supplemented Alone or Combined with Exogenous Amylase Compared with Virginiamycin Supplementation on Finishing Lambs: Performance, Dietary Energetics, Carcass Traits, and Nutrient Digestion. *Animals*. Vol: 11 (8), 2390.
- Estrada-Angulo A., Coronel-Burgos F., Castro-Pérez B. I., López-Soto M. A., Barreras A., Angulo-Montoya C., Contreras-Pérez G. y Plascencia A. 2017. Efecto de la inclusión de zeolita (clinoptilolita) en ovinos en etapa de finalización: respuesta productiva y energética de la dieta. *Arch. Zootec*. Vol: 66 (255): 381-386.
- FAO. 2009. 2050 High-Level Experts Forum: The Forum. Roma 12-13 Roma. Available online: <http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-forum/en> (accesado 26 Junio 2021).
- FAO. 2020. *Perspectivas alimentarias. Resúmenes de mercado*. ISSN 1564-2801

- FAO. 2021. Meat market review. <https://www.fao.org/3/cb3700en/cb3700en.pdf>
- FAOSTAT. 2021. Live animals. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize>
- Forsberg C. W., Forano E. y Chesson A. 2000. Microbial adherence to the plant cell wall and enzymatic hydrolysis. Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. CABI Publishing, Wallingford, UK. Pages 79–97.
- Frost G., Sleeth M., Sahuri-Arisoylu M., Lizarbe B., Cerdan S., Brody L., Anastasovska J., Ghourab S., Hankir M., Zhang S., Carling D., Swann J., Gibson G., Viardot A., Morrison D., Thomas L. y Bell J. 2014. The short- chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat. Commun.* Vol: 5, 3611.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. A review. *J. Appl. Bacteriol.* Vol 66: 635.
- Gabel, G., J. R. Aschenbach y F. Muller. 2002. Transfer of energy substrates across the ruminal epithelium: Implications and limitations. *Anim. Health Res. Rev.* Vol: 3:15–30.
- Gaggía F., Mattarelli P., Biavati B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe Food production. *International journal of food Microbiology.* Vol: 141: S15-S28.
- García-Díaz, T., Braco, A.F., Jacovaci, F.A., Jobim, C.C., Bolson, D.C. y Daniel, J.L.P. 2018. Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal parameters, inflammatory response and rumen morphology. *PLoS ONE* 13: e0193313.
- Ghazanfar S., N. Khalid, I. Ahmed y M. Imran. 2017. Probiotic Yeast: Mode of Action and Its Effects on Ruminant Nutrition. *Yeast - Industrial Applications.* INTECH. Chapter 8.p 179-202
- Gibson G. R. Y Roberfroid M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* Vol: 125:1401-12

- Gibson G. R., Probert H. M., Loo J.V., Rastall R.A., Roberfroid M. B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* Vol: 17: 259-75.
- Gibson G.R., Hutkins R., Sanders M.E., Prescott S.L., Reymers R.A. y Salminen S.J. 2017. Expert consensus document. The International Scientific Association (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol.* Vol: 14 (8):491-2
- Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J., Rastall, A.R. and Roberfroid, M.B. 2003. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* Vol: 17, 259–275
- González-Garduño R., Blardony-Ricardez K., Ramos-Juárez J. A., Ramírez-Hernández B., Sosa R. y Gaona-Ponce M. 2013. Meat Production profitability of Katahdin x Pelibuey sheep in three feeding system. *Avances en Investigación Pecuaria.* Vol: 17 (1): 135-148
- Guenther E. 1948. *The Essential Oils*; D. Van Nostrand: New York, NY, USA, 1948.
- He Y., Yuan Q., Mathieu J., Satdler L., Senehi N., Sun R. y Alvarez P. J. 2020. Antibiotic resistance genes from livestock waste: Occurrence, dissemination, and treatment. *Npj. Clean Water.* Vol: 4, 1-11.
- Hegde, N. G. 2019. Livestock development for sustainable livelihood of small farmers. *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences.* Pages 1-17.
- Heinrichs A.J., Jones C.M y Heinrichs B.S. 2003. Effects of Mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science.* Vol: 86 (12); 4064-4069,
- Hooge D.M. 2006. MOS may boost calf gain. *Feedstuffs.* Vol: 79 (19).
- Hulbert L. E. y S.J. Moisés. 2016. Stress, immunity, and the management of calves. *J. Dairy Sci.* Vol: 99: 3199–3216

- Hutjens M.F. 1991. Feed additives. *Vet Clinics North Am Food Anim Pract.* Vol: 7 (2):525
- Jonova S, Ilgaza A. y Grinfelde I. 2017. Methane mitigation possibilities and weight gain in calves fed with prebiotic inulin. *Research for rural development.* Vol: 1; 265-270.
- Jonova S., Ilgaza A. y Zolovs M. 2021. The Impact of Inulin and a Novel Synbiotic (Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Strain 1026 and Inulin) on the Development and Functional State of the Gastrointestinal Canal of Calves. *Veterinary Medicine International.* Vol: 2021, 9 pages.
- Khadem A.A., Pahlavan M., Afzalzadeh A., Rezaeian M. 2007. Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation parameters and microbial populations of rumen, total tract digestibility of diet nutrients and on the in situ degradability of alfalfa in Iranian Chall sheep. *Pakistan J. Biol. Sci.* Vol: 10, 590-597.
- Latack B. C., Montano M. F., Zinn R. A. y Salinas-Chavira, J. 2021. Effects of a blend of cinnamaldehyde-eugenol and capsicum (Xtract® Ruminant 7065) and ionophore on performance of finishing Holstein steers and on characteristics of ruminal and total tract digestion. *Journal of Applied Animal Research.* Vol: 49 (1), 185-193.
- López-Soto M. A., González E. A., Barreras A., Vizcarra V. M. G., García D. M., Plascencia A. y Zinn R. A. 2006. Influencia de una enzima fibrolítica exógena y el proceso de maceración en un forraje de baja calidad sobre digestión y función ruminal en vacas Holstein secas. *Veterinaria México.* Vol: 37 (3), 275-289.
- López-Soto M.A., Valdés-García Y.S., Plascencia A., Barreras A., Castro-Pérez B.I., Estrada-Angulo A., Ríos F.G., Gómez-Vázquez A., Corona L., Zinn R.A., 2013. Influence of feeding live yeast on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in steers fed a steam-flaked corn-based diet. *Acta Agric. Scand. Section A.* Vol: 63, 39-46.

- López-Valencia G, Zapata-Ramírez O, Núñez-González L, Núñez-Benítez V, Landeros-López H, López-Soto MA, Barreras A, González V, Estrada-Angulo A, Zinn, R.A y Plascencia A. 2017. Effective use of probiotic-glyconutrient combination as an adjuvant to antibiotic therapy for diarrhea in rearing dairy calves. *Turkish J Vet Anim Sci*. Vol: 41 (4):578-581
- Mader T.L., Davis M.S. y Brown-Brandl T. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci*. Vol: 84, 712-719.
- Manning T.S. y Gibson G.R. 2004. Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. Vol: 18 (2): 287-298.
- Marco M. L., S. Pavan y M. Kleerebezem. 2006. Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol: 17, 204:210
- Markowiak, P. y Śliżewska, K., 2018. The role of probiotics, prebiotics, and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog*. Pages 10-21.
- Mazinani M. y Rude B. 2020. Population, World Production and Quality of Sheep and Goat Products. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. Vol: 15 (4), 291-99.
- Meale S. J., Beauchemin K. A., Hristov A. N., Chaves A. V. y McAllister T. A. 2014. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. *Journal of Animal Science*. Vol: 92 (2), 427-442.
- Mendoza-Martínez G.D. y Ricalde-Velasco R. 2017. Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano. Segunda Edición. Editorial CBS
- Michalak M., Wojnarowski K., Cholewinska P., Szeligowska N., Bawej M. y Pacon J. 2021. Selected alternative feed additives used to manipulate the rumen microbiome. *Animals*. Vol: 11, 1542.
- Miltko R., Kowalik B., Majewska M., Bełżecki G. y Skomiał J. 2015. The influence of supplementing heifer diets with *Saccharomyces cerevisiae* yeast on the activity of polysaccharidases in the rumen. *J Anim Feed Sci*. Vol: 24, 260-263.

- Mithieux, G. 2014. Metabolic effects of portal vein sensing. *Diabetes Obes. Metab.* 16 (Suppl. 1), 56–60.
- Muwalla M. M., Haddad S. G. y Hijazeen M. A. 2007. Effect of fibrolytic enzyme inclusion in high concentrate fattening diets on nutrient digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Livestock Science.* Vol: 111 (3), 255-258.
- Nehme R., Andrés S., Pereira R. B., Ben Jemaa M., Bouhallab S., Ceciliani F., López S., Rahali F. Z., Ksouri R., Pereira D. M. y Abdennebi-Najar L. 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. *Antioxidants.* Vol: 10 (2), 330.
- Newbold C. J. 1996. Probiotics for ruminants. *Ann Zootec.* Vol: 45, 1, 329-335.
- Newbold C.J., R. J. Wallace y F. M. McIntosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *British Journal of Nutrition.* Vol: 76; 249-261
- NOM-025-ZOO-1995. Características y especificaciones zoosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que fabriquen productos alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/563481/NOM-025-ZOO-1995_161095.pdf
- NOM-061-ZOO-1999. Especificaciones zoosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203496/NOM-061-ZOO-1999_11102000.pdf
- Núñez-Benítez V. H., Barreras A., Estrada-Angulo A., Castro-Pérez B. I., Urías-Estrada J. D., Zinn R. A., Leyva-Morales J.B. y Plascencia, A. 2021. Evaluation of a standardized mixture of synbiotic-glyconutrients as a feed additive in steers fed a finishing diet: Site and extent of digestion, ruminal fermentation, and microbial protein synthesis. *Livestock Science.* Vol: 243, 104373.

- OECD/FAO. 2021. Agricultural Outlook 2021-2030, OECD Publishing, Paris. ISBN 978-92-64-98957-3
- Ornaghi M. G., Guerrero A., Vital A. C. P., de Souza K. A., Passetti R. A. C., Mottin C., de Araujo C. R., Sañudo C. y do Prado I. N. 2020. Improvements in the quality of meat from beef cattle fed natural additives. *Meat science*. Vol: 163, 108059.
- Padilla-Docal B., Dorta-Contreras A.J., Coifui-Fanego R. y Callol-Barroso J. 2009. Rol de la lectina de unión a manosa en infecciones parasitarias. Artículo de revisión. *Rev Panam Infectol*. Vol: 11 (3):45-48.
- Pandey A. K., Kumar P. y Saxena, M. J. 2019. Feed additives in animal health. In *Nutraceuticals in veterinary medicine*. Springer, Cham. (pp. 345-362)
- Phesatcha K., Chunwijitra K., Phesatcha B., Wanapat M. y Cherdthong A. 2021. Addition of Active Dry Yeast Could Enhance Feed Intake and Rumen Bacterial Population While Reducing Protozoa and Methanogen Population in Beef Cattle. *Fermentation*. Vol: 7 (3), 172.
- Plascencia, A. 2015. Evaluation of feed additives on performance of ruminants fattening under conditions of high ambient temperatures (in Spanish). XXV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Áridos. Ensenada Baja California, México. pp. 1-27.
- Pontarolo G. B., Neumann M., Cristo F. B., Stadler E. S., de Souza A. M., Machado M. P., Bonato M. A., Borges L.L., Bumbieris V. H. y da Silva, M. R. H. 2021. Effects of including autolyzed yeast in the finishing of feedlot steers. *Semina: Ciências Agrárias*. Vol: 42 (4), 2471-2488.
- Radzikowski, D. 2017. Effect of probiotics, prebiotics and synbiotics on the productivity and health of dairy cows and calves. *WSN*. Vol: 78, 193-198.
- REAL ACADEMIA ESPAÑOLA. 2020. Diccionario de la lengua española, 23.^a ed., [versión 23.4 en línea]. <<https://dle.rae.es>> [18/10/2021]

- Rojo R., Mendoza G. D., González S. S., Landois L., Bárcena R. y Crosby M. M. 2005. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*. Vol:123, 655-665.
- Rojo-Rubio R., Mendoza-Martínez G. D., Montañez-Valdez O. D., Rebollar-Rebollar, S., Cardoso-Jiménez D., Hernández-Martínez J. y González-Razo F. J. 2007. Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. *Universidad y Ciencia*. Vol: 23 (2), 173-182.
- Saad N., C. Delattre, M. Urdaci, J.M. Schmitter y P. Bressollier. 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT—food science and technology*. Vol: 50, 1-16.
- Salem A. Z. M., Gado H. M., Colombatto D. y Elghandour M. M. Y. 2013. Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers. *Livestock Science*. Vol: 154; 69-73.
- Salinas-Chavira J., Montañó M.F., Torrentera N. y Zinn R.A. 2018. Influence of feeding enzymatically hydrolysed yeast cell wall + yeast culture on growth performance of calf-fed Holstein steers. *J. Appl. Anim. Res.* Vol: 46, 327-330.
- Samanta A.K., N. Jayapal, S. Senani, A.P. Kolte y M. Sridhar. 2013. Prebiotic inulin: Useful dietary adjuncts to manipulate the livestock gut microflora. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol: 44 (1) pp. 114.
- Samanta AK, Kolte AP, Chandrasekharaiya M, Thulasi A. y Sampath KT, Prasad CS. 2007. Prebiotics: The rumen modulator for enhancing the productivity of dairy animals. *Indian Dairyman*. Vol: 59:58-61.
- Samuelson KL, Hubbert ME, Galyean ML y Löest CA. 2016. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *J Anim Sci*. Vol: 94; 2648-2663.

- Sanders M.E., Merenstein, D.J. y Reid, G. 2019. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Vol: 16, 605–616.
- Schmidt A.P, Piagetti-Noschang J., Carpinelli N. A., Faccio-Demarco C., Valadão-Vieira L., Amaral-Barbosa A., Nunes-Corrêa M., Schmitt E., de Oliveira Feijó J. y Cassal-Brauner C. 2020. Evaluation of biochemical profile and rumen fluid parameters of sheep supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and subjected to an abrupt diet change. *Semina: Ciências Agrárias*. Vol: 41 (Supl 2), 3311-3322.
- Seo J.K., Kim S.W., Kim M.H., Upadhaya S. D., Kam D.K., Ha J.K. 2010. Direct-fed microbials for ruminant animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*. Vol. 23 (12) 1657 – 1667.
- Sharma M. y Kumar A. 2013. Xylanases: an overview. *Biotechnology Journal International*. pages 1-28.
- Shurson G.C. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology*. Vol: 235: 60–76
- SIAP. Sistema de información agropecuaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Análisis estadístico de la producción agrícola. <http://www.siap.gob.mx>. Consultado 01 Sep. 2021.
- Spring P, Wen K C, Connolly A. y Kiers A. 2015. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligo-saccharide, and Actigen®, a second generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. *Journal of Applied Animal Nutrition*. Vol: 3 (7): 1–11
- Stevanović Z. D., Bošnjak-Neumüller J., Pajić-Lijaković I., Raj J. y Vasiljević M. 2018. Essential oils as feed additives future perspectives. *Molecules*. Vol: 23 (7), 1717.

- Stock R. y Mader T. L. 1985. Feed Additives for Beef Cattle. Historical Materials from University of Nebraska Lincoln. Extension, pages 1-7.
- Stone C.W. 2006. Yeast products in the feed industry: a practical guide for feed professionals. <https://en.engormix.com/feed-machinery/articles/yeast-products-infeed-industry-t33489.htm>.
- Streeter C. L., Horn G. W. y McClung J. E. 1981. Yeast culture in a free-choice mineral supplement for stocker cattle grazing wheat pasture. Oklahoma Agr. Exp. Sta. Research Reports MP-108, 101-105.
- Sujani S. y Seresinhe R. T. 2015. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. Asian Journal of Animal Sciences. Vol: 9 (3), 85-99.
- Sullivan, H. M. y S. A. Martin. 1999. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. J. Dairy Sci. Vol: 82: 2011-2016.
- Suzuki, I., Tanaka, H., Kinoshita, A., Oikawa, S., Osawa, M. y Yadomae, T. 1990. Effect of orally administered beta-glucan on macrophage function in mice. Int. J. Immunopharmacol. Vol:12, 675–684.
- Swanson K. S., Gibson G. R., Hutkins R., Reimer R. A., Reid G., Verbeke K., Scott K.P., Holscher H.D., Azad M.B., Delzenne N. M. y Sanders M. E. 2020. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. Nature Reviews, Gastroenterology & Hepatology. Vol: 17 (11), 687-701.
- Thomas W.E., Nilsson L.M., Forero M., Sokurenko E.V. y Vogel V. 2004. Shear-dependent 'stick-and-roll' adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli*. Mol. Microbiol. Vol: 53: 1545–1557
- Timmerman H.M., L. Mulder, H. Everts, D.C. Van Espen, E. Van Der Wal, G. Klaassen, S.G.M. Rouwers, R. Hatermink, F.M. Rombouts y A.C. Beynen. 2005. Health

- and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.* Vol: 88: 2154–2165
- Tirado-González D. N., Miranda-Romero L. A., Ruíz-Flores A., Medina-Cuéllar S. E., Ramírez-Valverde R. y Tirado-Estrada G. 2017. Meta-analysis: effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. *Journal of Applied Animal Research.* Vol: 46 (1), 771-783.
- Torres R. N. S., Moura D. C., Ghedini C. P., Ezequiel J. M. B. y Almeida, M. T. C. 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. *Small Ruminant Research.* Vol: 189, 106148.
- Uyeno Y., S. Shigemori y T. Shimosato. 2015. Effects of prebiotics/prebiotics in cattle health and productivity: Mini-review. *Microbes Environ.* Vol: 30:126-132.
- Valdivia A. L., Matos M., Martínez S., Pérez Y., Rubio Y. y Vega J. 2019. Enzymatic additives and their use on animal rearing. *Cuban Journal of Agricultural Science.* Vol: 53, No 4; 341-352.
- Velázquez-de-Lucio B.S., Hernández-Domínguez E.M., Villa-García M., Díaz-Godínez G., Mandujano-Gonzalez V., Mendoza-Mendoza B. y Álvarez-Cervantes J. 2021. Exogenous Enzymes as Zootechnical Additives in Animal Feed: A Review. *Catalysts.* Vol: 11, 851.
- Villarreal-Alarcón M.A., Órtiz-López R., Rojas-Martínez A., Garza-Elizondo M.A. y Suárez-Garza J. 2008. Lectina fijadora de la manosa en la respuesta inmunitaria innata. *Medicina Universitaria.* Vol: 10 (39):102-7
- Volman, J.J., Ramakers, J.D. y Plat, J. 2008. Dietary modulation of immune function by β -glucans. *Physiol. Behav.* Vol: 94, 276–284.
- Wagner J. J., Engle T. E., Belknap C. R. y Dorton K. L. 2016. Meta-analysis examining the effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on feedlot performance and carcass traits. *The Professional Animal Scientist.* Vol: 32 :172–182.

- Yirga H. 2015. The Use of Probiotics in Animal Nutrition. *J Prob Health*. Vol: 3: 132.
- Zheng C., Li F., Hao Z., Liu T. 2018. Effects of adding mannan oligosaccharides on digestibility and metabolism of nutrients, ruminal fermentation parameters, immunity, and antioxidant capacity of sheep. *J. Anim. Sci.* Vol: 96, 284-292.
- Zheng C., Ma j., Liu T., Wei B. y Yang H. 2019. Effects o mannan oligosaccharides on gas emisión, protein and energy utilization and fasting metabolism in sheep. *Animals* Vol: 9, 741.
- Zheng C., Zhou J., Zeng Y. y Liu T. 2021. Effects of mannan oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation and hematological parameters in sheep. *Peer J.* 9, e11631.