
Artículo científico

Suplementación con β -mananasa en dietas de vacas Jersey en una lechería de altura en Costa Rica¹

Andrés Cordero-Vargas², Augusto Rojas-Bourrillon³, Carlos M. Campos-Granados⁴

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la inclusión de β -mananasa en alimentos balanceados para vacas lecheras en lactación temprana en una finca comercial en la zona de Oreamuno de Cartago, Costa Rica. Se utilizaron 27 vacas Jersey en pastoreo, distribuidas con base en producción de leche, días en lactación y número de lactancia en 3 grupos experimentales: 0%, 0,1% y 0,2% de inclusión de la enzima β -mananasa en el alimento balanceado. Las variables analizadas fueron: producción de leche (kg/día), leche corregida a 4% de grasa, porcentaje de sólidos totales (grasa, proteína, lactosa, minerales), contenido de células somáticas (cs/ml), calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y nitrógeno ureico en leche (NUL). Se realizó un análisis de medidas repetidas con un modelo linear mixto analizado con el software estadístico SAS y una prueba de Tukey para determinar la significancia ($p < 0.05$) de los posibles efectos del uso de la enzima β -mananasa. No se encontraron diferencias significativas para ninguna de las variables evaluadas ($p > 0.05$), esto asociado al bajo contenido de manano-oligosacáridos de la dieta experimental (21,12-29,46 g/animal/día). Por lo tanto, se concluye que, bajo las condiciones de este experimento, no se observó ningún efecto de la inclusión de la enzima β -mananasa en la dieta de vacas Jersey en lactancia temprana.

Palabras clave: enzimas, manano-oligosacáridos, producción, calidad de leche, minerales.

¹Esta investigación forma parte del trabajo de graduación de licenciatura del primer autor en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Escuela de Zootecnia. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica.

²Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia. San José, Costa Rica. Correo electrónico: andres.corderovargas@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-6847-5702>).

³Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia y Centro de Investigación en Nutrición Animal. San José, Costa Rica. Correo electrónico: arojasbourrillon@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-9834-2361>)

⁴Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia y Centro de Investigación en Nutrición Animal. San José, Costa Rica. Autor para correspondencia: carlosmario.campos@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0002-0079-2621>)

Recibido: 17 octubre 2022 Aceptado: 26 marzo 2023

Esta obra está bajo licencia internacional Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0.



ABSTRACT

β -Mannanase supplementation in Jersey cows' diets at a high-altitude Costa Rica dairy. The effect of the inclusion of β -mannanase in feed for early lactating dairy cows on a commercial farm in the Oreamuno area of Cartago, Costa Rica was evaluated. Twenty-seven grazing Jersey cows were used, distributed based on milk production, days in lactation, and number of lactations in 3 experimental groups: 0%, 0.1%, and 0.2% inclusion of the β -mannanase enzyme. The variables analyzed were milk production (kg/day), milk corrected to 4% fat, percentage and kilograms of total solids, fat, protein, lactose, non-fat solids, somatic cell count (cs/ml), calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg) and milk ureic nitrogen (MUN). A repeated measures analysis was carried out with a mixed linear model analyzed with the SAS statistical software and a Tukey test to determine the significance ($p < 0.05$) of the possible effects of the use of the β -mannanase enzyme. No significant differences were found for any of the variables evaluated ($p > 0.05$), this was associated with the low mannan-oligosaccharides content of the experimental diet (21.12-29.46 g/animal/day). Therefore, it is concluded that under the conditions of this experiment, no effect of the inclusion of the enzyme β -mannanase in the diet of Jersey cows in early lactation was observed.

Keywords: enzymes, mannan-oligosaccharides, production, milk quality, minerals.

INTRODUCCIÓN

Los manano-oligosacáridos son carbohidratos que se encuentran en las plantas normalmente como glucomananos y galactomananos, estos presentan factores antinutricionales y no son digeridos por los animales (Zyl et al., 2010). Estos carbohidratos se encuentran en productos utilizados en la alimentación animal como la soya y los subproductos de palma africana (Martínez et al., 2013). Actualmente, en el sector lechero, la alimentación de las vacas en ordeño representa un 51,82% de los costos de operación, de los cuales un 40-45% corresponden a alimentos balanceados. Por esta razón, es de gran importancia aprovechar al máximo los insumos que se utilizan en la alimentación de los animales (Gutiérrez, 2015).



Para combatir el problema de contenido de factores antinutricionales de algunas materias primas en la alimentación animal, se ha implementado el uso de enzimas como la β -mananasa en alimentos balanceados. Esta enzima es producida a partir de hongos, principalmente levaduras y bacterias, y posee amplias aplicaciones en la industria; como lo son producción de biocombustible, productos farmacéuticos, procesamiento de desechos del café, producción de manano-oligosacáridos, entre otros (Zyl et al., 2010).

En relación con la producción animal, el uso de β -mananasa se ha implementado en el sector de monogástricos, como la avicultura y la porcicultura. Estos animales no pueden degradar de manera eficiente dietas altas en fibra, ya que contienen compuestos como los manano-oligosacáridos (Navarrete, 2008). Debido a esto, el nivel de inclusión de materiales fibrosos en dietas, por lo general altos en proteína y aceite (soya, harina de coquito), están limitados por su baja digestibilidad en aves y como causantes de flatulencias en cerdos (Zyl et al., 2010).

En el ámbito de monogástricos, el uso de la enzima β -mananasa presenta diversos resultados. En el sector avícola se reportan aumentos en digestibilidad (Li et al., 2010), ganancias de peso y mejorías en conversión alimenticia (Cho y Kim, 2013). Por otro lado, en producción porcina se ha demostrado un aumento en digestibilidad y ganancias de peso (Kim et al., 2013), además de una disminución en la emisión de gases (Zyl et al., 2010). En rumiantes se ha visto que la inclusión de β -mananasa aumenta las ganancias de peso y la retención de nitrógeno en cabras para engorde (Lee et al., 2014). También, se ha observado mejoras en la relación costo:beneficio con su inclusión en reemplazadores para terneros, al utilizar fuentes vegetales como fuente de proteína (Nabté, 2009).

Sobre la producción lechera, con respecto a los rumiantes no existe literatura disponible que indique su utilización. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de la utilización de la enzima β -mananasa en la dieta de vacas en lactación temprana sobre el rendimiento productivo, composición láctea y valores de nitrógeno ureico en leche (NUL).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El experimento se realizó en una finca comercial productora de leche ubicada en el distrito de Santa Rosa, cantón de Oreamuno (latitud 09° 52', longitud 50° 10'), provincia de Cartago. Se llevó a cabo entre los meses de enero y abril del 2015. La finca se ubica a 2060 m s.n.m y las condiciones de la zona son: precipitación media anual de 2370 mm, distribuidos durante mayo a diciembre, con una humedad relativa media de 84% y temperatura media de 14,2 °C.

Diseño del experimento, animales y dietas

Se utilizaron 27 vacas de raza Jersey en lactancia temprana. Estas fueron agrupadas en tres grupos de manera tal que la producción de leche (Grupo 1: 26,55 kg/vaca/día; Grupo 2: 26,10 kg/vaca/día; Grupo 3: 25,65 kg/vaca/día), los días en lactancia (Grupo 1: 62,3; Grupo 2: 66,5; Grupo 3: 60,0) y el número de parto (4,5 para todos los grupos) fuesen lo más homogéneo posible, para que esto no influyese en los resultados obtenidos. Se definieron 3 tratamientos con 9 repeticiones cada uno: 1) 0%, 2) 0,1% y 3) 0,2% de inclusión de β -mananasa (CTCZYME®, CTC Bio Inc., Seoul, Corea).

Los animales consumían diariamente una dieta compuesta de: pastoreo de pasto kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) de 33 días de edad de cosecha (45 kg de consumo estimado), 8 kg de alimento comercial para ganado lechero, 1,5 kg de pulpa de cítricos peletizada, 1,5 kg de alimento fibroso, 1 kg de melaza de caña de azúcar, 150 g de mineral para ganado lechero y 100 g de sal blanca y agua *ad libitum*. La composición nutricional de estos ingredientes se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición nutricional de los ingredientes de la ración ofrecida a los animales durante el desarrollo del experimento.

Ingrediente	MS (%)	PC (%)	FDN (%)	ENL (Mcal/kg MS)
Kikuyo	15,6	22,8	54,3	1,6
Alimento comercial	87,0	16,0	15,3	1,8
Pulpa de cítricos peletizada	87,0	6,2	19,6	1,6
Alimento fibroso	87,0	10,0	22,6	1,5
Melaza	75,0	5,2	-	1,3
Mineral para ganado lechero	96,5	-	-	-
Sal blanca	90,0	-	-	-

Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad. Cooperativa Dos Pinos. Metodología de análisis de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS).

*MS: materia seca. PC: proteína cruda. FDN: fibra detergente neutro. ENL: energía neta de lactancia.

El consumo diario de materia seca de los animales fue de 17,9 kg promedio. La composición nutricional promedio de la dieta fue de: 28,9% de materia seca, 18,3% de proteína cruda (PC), 35,3% de fibra detergente neutro (FDN), 17,3% de fibra detergente ácida (FDA) y 1,79 Mcal/kg MS de energía neta de lactancia (ENL).

Los animales de los tratamientos 2 y 3 recibieron de manera individual la enzima con el alimento balanceado antes de cada ordeño todos los días a las 4 a.m. y a las 4 p.m.

Finalmente, se analizó la concentración de manano-oligosacáridos en el alimento comercial, la pulpa de cítricos peletizada y el alimento fibroso utilizando una prueba de cromatografía líquida de alta resolución (HPCL) en el laboratorio de la empresa CTC Bio Inc., Seoul, Corea. Los resultados obtenidos fueron: alimento comercial con 0,32%, alimento fibroso con 0,27% y la pulpa de cítricos peletizada con 0,11%

Variables evaluadas

- Producción de leche: se llevó un registro de producción de leche diaria por animal y, además, se calculó la producción de leche corregida al 4% de grasa mediante la ecuación propuesta por Gaines (1928): $[(0,4 \times \text{kg leche/día}) + (15 \times \text{kg grasa/día})]$.

- Calidad de leche: se realizó un muestreo semanal de leche por animal para analizar el contenido porcentual de sólidos totales (grasa, proteína, lactosa, minerales) mediante la metodología de NIRS con el equipo MilkoScan FT-120; nitrógeno ureico en leche (NUL) mediante el método enzimático y la cuantificación por espectrofotometría con el equipo ChemSpec® 150; y el conteo de células somáticas (CCS) a partir de la metodología de colorimetría; y conteo de impulsos eléctricos de fluorescencia utilizando el equipo Fossomatic Serie 400. Todos los análisis se realizaron en el laboratorio de la Cooperativa Dos Pinos.

- Contenido mineral de la leche: se tomaron muestras de leche por animal en las semanas 2, 5, 8 y 12 para determinar la concentración de calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) con el método espectrofotométrico de absorción atómica con atomizador de llama (FAAS) en los laboratorios del Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica.

Análisis de la información

Se utilizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo con un modelo lineal mixto (PROC MIXED) mediante el software estadístico SAS (SAS Institute, 2004). Para determinar la significancia de los efectos del uso de la enzima β -mananasa, se empleó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + V_i + S_j + T_k + \beta (x_{ijkl} - X_{..}) + \epsilon_{ijkl}$$

Donde:

y_{ijkl} : l-ésima observación de la i-ésima vaca en la j-ésima semana del k-ésimo tratamiento.

μ : media poblacional

V_i : Efecto de la i-ésima vaca.

S_j : Efecto de la j-ésima semana.

T_k : Efecto del k-ésimo tratamiento.

β : Coeficiente de regresión que relaciona y_{ijkl} con la covariable x_{ijkl} .

x_{ijkl} : medida de la covariable para y_{ijkl} .

X: Media de los valores xijkl.

ϵ_{ijkl} : Error aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción y calidad de leche

Bajo las condiciones en que se realizó el ensayo, no se encontró ningún efecto significativo del tratamiento sobre las variables evaluadas ($p > 0.05$), como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Variables evaluadas para producción y calidad de leche durante el desarrollo del experimento.

Variable	Tratamiento 1 (0% β -mananasa)	Tratamiento 2 (0,1% β -mananasa)	Tratamiento 3 (0,2% β -mananasa)
Producción diaria de leche (kg/vaca)	25,61	25,20	25,64
Producción Corregida al 4% de grasa (kg/vaca)	25,54	24,38	25,04
Sólidos totales (%)	13,10	12,82	12,97
Grasa (%)	4,02	3,88	3,89
Proteína (%)	3,53	3,43	3,57
Lactosa (%)	4,96	4,89	4,91
Minerales (%)	0,59	0,62	0,60
NUL (mg/dl)	18,83	18,20	17,30
CCS (células/ml)	157 795,00	240 499,00	185 468,00

NUL=nitrógeno ureico en leche; CCS= conteo de células somáticas.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores, Tewoldebrhan et al. (2017) y Roque et al. (2019), quienes no observaron diferencias en la producción de leche en vacas que recibieron 0,10% de β -mananasa en la dieta comparadas con el control. Otros autores como Arriola et al. (2011) y Peters et al. (2015), no encontraron diferencias en producción con el uso de otras enzimas fibrolíticas exógenas como las endonucleasas y las xilanasas en vacas lecheras.

De acuerdo con Kong et al. (2011), los efectos positivos de la adición de β -mananasa en dietas de vacas lecheras pueden obtenerse cuando el nivel de manano-oligosacáridos en la dieta es suficiente para funcionar como sustrato para la enzima; lo cual no fue posible en este experimento dado la baja concentración de estos en los ingredientes utilizados.

La dieta de los animales en el presente estudio aportó entre 21,12 y 29,46 g/vaca/día (0,12% y 0,15%) de manano-oligosacáridos del total de MS. Este valor se considera bajo, pues, según reportan Lee et al. (2014), la ingesta de manano-oligosacáridos recomendada para que la enzima β -mananasa en vacas lecheras tenga un efecto debe ser mayor a 40 g/vaca/día. Este efecto positivo de la inclusión de la enzima se debe al incremento en la digestión de la fibra, la cual puede liberar una mayor cantidad de energía en la dieta, mejorando así el metabolismo energético del animal (Wu et al., 2005).

Con respecto a la composición y calidad de la leche, la inclusión de β -mananasa no tuvo ningún efecto significativo ($p>0.05$) sobre los componentes lácteos (grasa, proteína, lactosa, minerales); lo cual también fue reportado por Arriola et al. (2017), quienes realizaron un meta-análisis de 15 estudios, donde se evaluó la complementación con enzimas fibrolíticas y sus efectos en el comportamiento productivo de vacas lecheras. El reporte indica que no hubo efecto en la composición de la leche, pues el efecto de la adición con enzimas puede ser enmascarado por la preparación del producto, la dosis, la actividad enzimática y el método de suministro. También puede ser afectado por el mecanismo de acción (Beauchemin y Holtshausen, 2010) y la composición de la dieta basal (Tirado-González et al., 2018), como se mencionó anteriormente.

La actividad enzimática del producto como tal es de gran importancia, ya que influye en el nivel de actividad enzimática a nivel ruminal. Esta actividad debe complementar a la de los microorganismos del rumen para aumentar el nivel de fermentación de las fibras (Wallace et al., 2001).

En este sentido, es también de suma importancia la cantidad de enzima suplementada. Se ha visto que, al aumentar la dosis en la dieta, también aumenta su impacto en el rendimiento del animal. Beauchemin et al. (1997) estudiaron dietas basadas en cebada, con el efecto de inclusión de xilanasas (5500 U y 2200 U/kg de MS de la dieta) encontrando que la mayor dosis utilizada mejoró la conversión alimenticia en 11%. Como se comentó anteriormente, el nivel de inclusión utilizado pudo haber sido muy bajo. Por otro lado, la estabilidad de la enzima en el tracto gastrointestinal es esencial. Si el producto no es estable a pH del tracto digestivo no va a poder cumplir su función (Hristov et al., 1998).

El método de aplicación de la enzima es otro factor que afecta el resultado en una prueba. Yang et al. (2000) estudiaron el método de aplicación de una enzima fibrolítica en ganado lechero en lactación temprana. A un grupo de animales se le aplicó la enzima en la mezcla de una ración total mixta (TMR) (grupo 1) y a otro directamente a la porción de concentrado de la dieta (grupo 2). Se obtuvo como resultado un aumento en la producción de leche de 2,2 litros de leche para el grupo 2 en comparación al grupo 1. Esto demuestra que el mismo producto con una estrategia de uso diferente puede obtener resultados diferentes.

En el mercado existen muchos productos similares, pero estos pueden diferir en su impacto (Bedford y Partridge, 2011). Morgavi et al. (2001) analizaron *in vitro* el comportamiento de cuatro preparaciones comerciales de enzimas fibrolíticas originarias de *Trichoderma longibrachiatum*. Los autores concluyeron que todos los productos fueron estables a nivel ruminal. Sin embargo, se observaron diferentes comportamientos de actividad enzimática e inactivación ruminal entre las diferentes preparaciones. El comportamiento de la β -mananasa a nivel ruminal se desconoce, por lo que se considera importante conocer esta información para una mayor comprensión de su actividad.

En cuanto a los valores de NUL, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) y los valores son muy similares al reportado por González (2014); el cual fue de 18,55 mg/dl para vacas de raza Jersey. Sin embargo, no concuerdan con los valores reportados por Vargas (2014), quien menciona valores de NUL de 20,3 mg/dl para una dieta alta en proteína (16,5% PC) y 18,7 mg/dl para una dieta basal (15,8% PC) en animales Holstein.

Esto podría sugerir que la β -mananasa incrementa la generación de proteína microbial en el rumen. Esto podría implicar que un posible cambio ocurrió en el balance de la disponibilidad de proteína y carbohidratos (CHO's) a nivel ruminal. Una mayor cantidad de CHO's disponibles para su fermentación podría haber reducido los valores de NUL, generando una mejor sincronización de cantidades de CHO's:proteína en el rumen, obteniendo así una mayor producción de proteína microbial (Ishler, 2008).

La hidrólisis de los mananos por parte de la enzima β -mananasa resulta en varios compuestos, como lo son los manano-oligosacáridos (MOS); los cuales poseen varios efectos prebióticos en el tracto gastrointestinal (Huang et al., 2014). Nochta et al. (2010), al adicionar 1,0 g/kg de MOS, obtuvieron un incremento significativo en la digestibilidad de lisina, metionina, cisteína y treonina en lechones al destete. Esto indica que se podría esperar una mayor absorción de estos aminoácidos a nivel intestinal en las vacas. Sin embargo, en el presente estudio no se encontró algún efecto significativo en la producción de leche o concentración de proteína en la leche.

Finalmente, con respecto al contenido de células somáticas en la leche, no se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) para los tratamientos evaluados. Algunos autores sugieren que el metabolismo de los manano-oligosacáridos genera incrementos en el estatus energético del animal y, por ende, mejora la respuesta inmune del animal (Durr et al., 2008); además de una reducción en la producción de haptoglobina. Esta es una proteína transportadora de hemoglobina que elimina la formación de coágulos sanguíneos mediante la unión de fragmentos de hemoglobina, los cuales se metabolizan en las células hepáticas y tienen efectos antiinflamatorios de la ubre (Roque et al., 2019).

Contenido mineral de la leche

Los valores promedio de la composición mineral de la leche producida por los animales se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Contenido mineral de la leche producida por los animales durante el desarrollo del experimento.

Mineral	Tratamiento 1 (0% β -mananasa)	Tratamiento 2 (0,1% β -mananasa)	Tratamiento 3 (0,2% β -mananasa)
Calcio (mg/L)	1287,1	1298,6	1322,9
Fósforo (mg/L)	145,3	159,6	162,1
Magnesio (mg/L)	119,7	118,0	125,1

No se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) para el contenido mineral de la leche para ninguno de los tratamientos evaluados. Estos resultados no concuerdan con lo reportado por Notcha et al. (2010), quienes determinaron un aumento en la deposición de Ca, P y Mg en tejidos corporales. Esto se podría atribuir a una mayor absorción de estos minerales, ligado a una liberación de manano-oligosacáridos en el tracto digestivo, lo que aumentó significativamente la digestibilidad de Ca y P en 8,4 y 7,7%, respectivamente.

Estos resultados podrían explicarse por la baja concentración de manano-oligosacáridos de las dietas propuestas. Pues, según lo que plantean Kogan y Kocher (2007) y Castillo et al. (2008), la mejoría en la absorción de estos minerales en los animales en producción es un reflejo de la liberación que hace la β -mananasa de estos en los ingredientes de origen vegetal. Sin embargo, al tener bajas concentraciones de estos polisacáridos en las dietas del presente estudio, el efecto obtenido no fue significativo.

CONSIDERACIONES FINALES

Bajo las condiciones descritas en esta investigación, no se encontró ningún efecto significativo de la inclusión β -mananasa en dietas de vacas lecheras sobre la producción y calidad de la leche, así como en el contenido mineral de la misma.

En cuanto al conteo de células somáticas en leche, el resultado tampoco fue significativo y los datos obtenidos variaron a través del periodo experimental, por lo que se requiere de un ambiente más controlado para poder analizar esta variable.

La baja concentración de manano-oligosacáridos en la dieta no permitió observar efectos positivos de la inclusión de la β -mananasa en la dieta de las vacas. Por lo tanto, se recomienda realizar una determinación inicial del contenido de manano-oligosacáridos en la dieta previo a la inclusión de esta enzima, de manera tal que las dietas con alto contenido de estos polisacáridos permitan valorar de mejor manera si hay efectos beneficiosos en el uso de estas enzimas en dietas de vacas en producción de leche.

Aunado a esto, se recomienda realizar más investigación en animales desde el día 1 de lactancia, así como en otras razas de producción lechera y en otras condiciones de alimentación como semi-estabulación y estabulación completa.

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen a los señores Julio Sancho y Álvaro Sancho, propietarios de la finca El Plantón; así como al personal, en especial al señor Johnny Calderón, por su colaboración y los aportes brindados durante la realización de esta investigación. Asimismo, agradecen a la empresa CTC Bio Inc. y al señor Jung Jin Lee por todo el apoyo brindado. Finalmente, agradecen al personal de los laboratorios de la Cooperativa Dos Pinos y del Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica por la realización de los análisis de laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Arriola, K. G., S. Kim, C. Staples, y A. Adesogan. 2011. Effect of fibrolytic enzymes application to low-and high-concentrate diet in the performance of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 94: 832-841. doi: 10.3168/jds.2010-3424.
- Arriola, K. G., A. Oliveira, X. Ma, I. Lean, M. Giurcanu, y A. Adesogan. 2017. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance

- of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100: 4513-4527. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12103>.
- Beauchemin, K., S. Jones, L. Rode, y V. Sewalt. 1997. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 77:645-653. ISSN: 0008-3984.
- Beauchemin, K. A., y L. Holtshausen. 2010. *Developments in enzyme usage in ruminants*. 2nd ed. CAB Int., Wallingford, UK. doi: 10.1079/9781845936747.0206.
- Bedford, M., y G. Partridge. 2011. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2nd Edition. CAB International. United Kingdom. 330 pp. ISBN: 1845936744.
- Castillo, M., S.M. Martín-Orúe, J.A. Taylor-Pickard, J.F. Pérez y J. Gasa. 2008. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects on microbiota and gut function. *Journal of Animal Science*, 86(1):94-101. doi: 10.2527/jas.2005-686.
- Cho J., y I. Kim. 2013. Effect of beta-mannanase supplementation in combination with low and high energy dense diets for growing and finishing broilers. *Livestock Science*, 154:137-143. doi: 10.1016/j.livsci.2013.03.004.
- Durr, J. W., R. Cue, H. Monardes, J. Moro-Mendez, y K. Wade. 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livestock Science*, 117 (2-3): 225-232. doi: 10.1016/j.livsci.2007.12.004.
- Gaines, W.L. 1928. The energy basis for measuring milk yield in dairy cows. *Illinois Agricultural Experimental Station Bulletin 308*. University of Illinois Agricultural Experiment Station, Urbana. 40 p.
- González, J. 2014. *Relación del valor de urea en leche con parámetros reproductivos y productivos en animales Holstein, Jersey y sus cruces en diferentes proporciones en Costa Rica*. Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. 39 pp.

- Gutiérrez, L. 2015. Análisis de la competitividad del sector lácteo costarricense: Visión de la cámara nacional de productores de leche. Memorias Congreso Nacional Lechero 2015. Costa Rica.
- Hristov, A., T. Mcallister, y K. Cheng. 1998. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. *Journal of Animal Science*, 76:3146-3156. doi: 10.2527/1998.76123146x.
- Huang, J., C. Chen, C. Huang, T. Huang, T. Wu, Y. Cheng, T. Ko, C. Lin, J. Liu, y R. Guo. 2014. Improving the specific activity of β -mannanase from *Aspergillus niger* BK01 by estucture-based rational design. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1844: 663-669. doi: 10.1016/j.bbapap.2014.01.011.
- Ishler, V. 2008. Interpretation of milk urea nitrogen values. Pennstate University. Cooperative Extention. Disponible en: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrientmanagement/certified-dairy/tools/interpret-mun-values-08134.pdf>
- Kim, J., S. Ingale, S. Lee, K. Kim, J. Kim, J. Lee, y B. Chae. 2013. Effects of energy levels of diet and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 186: 64-70. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.08.008.
- Kogan, G. y A. Kocher. 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*, 109: 161-165. doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.134.
- Kong, C., J. Lee, y O. Adeola. 2011. Supplementation of β -mannanase to starter and grower diets for broilers. *Canadian Journal of Animal Science*, 91 (3): 389- 397. doi: 10.4141/CJAS10066.
- Lee, J., J. Seo, J. Jung, J. Lee, J. Lee, y S. Seo. 2014. Effects of β -mannanase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and nitrogen utilization of Korean native goat (*Capra hircus coreanae*). *Livestock Science*, 169: 83-87. doi: 10.1016/j.livsci.2014.08.018

- Li, Y., X. Chen, Y. Chen, Z. Li, y Y. Cao. 2010. Effects of β -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn-soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels. *Animal Feed Science Technology*, 159: 59-67. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.05.001.
- Martínez, M., C. Bostvironnois, V. Naranjo, y K. Pulsen. 2013. El uso de la beta-mananasa para controlar el impacto de respuesta inmunitaria inducida por alimentos y sus implicaciones en la avicultura comercial. 50 Congreso Científico de Avicultura. Simposio WPSA-AECA. España. 5 pp.
- Morgavi, D., K. Beauchemin, V. Nsereko, L. Rode, T. Mcallister, A. Iwaasa, Y. Wang, y W. Yang. 2001. Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastrointestinal proteases. *Journal of Animal Science*, 79 (6): 1621-1630. doi: 10.2527/2001.7961621x.
- Nabté, L. 2009. Effect of β -mannanase enzyme addition to soy-containing milk replacers on growth and health of neonatal dairy calves. Thesis presented for the Degree of Master of Science. Cornell University. USA. 105 pp.
- Navarrete, C. 2008. Implementación y modificaciones del método para determinar la fibra soluble en detergente neutro. Tesis presentada para optar por el grado de Master en Producción Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 45 pp.
- Nochta, L., V. Halas, J. Tossenberger, y L. Babinszky. 2010. Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on the apparent ileal digestibility of nutrients, N-balance and growth performance of weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94 (6): 747-56. doi: 10.1111/j.1439-0396.2009.00957.x.
- Peters, A., U. Meyer, y S. Dänicke. 2015. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on performance and blood profile in early and mid-lactation Holstein cows. *Animal Nutrition*, 1 (3): 229-238. doi: 10.1016/j.aninu.2015.09.001.
- Roque, B. M., G. Reyes, T. Tewoldebrhan, J. Apphuamy, J. Lee, S. Seo, y E. Kebreab. 2019. Exogenous β -mannanase supplementation improved immunological and metabolic responses in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102: 4198-4204. doi: 10.3168/jds.2018-15568.

- SAS Institute. 2004. SAS Institute. SAS User's Guide: Statistics. Version 8 ed. SAS Institute, Inc, Cary, NC. USA.
- Tewoldebrhan, T. A., J. Appuhamy, J. Lee, M. Niu, S. Seo, S. Jeong, y E. Kebreab. 2017. Exogenous beta-mannanase improves feed conversion efficiency and reduces somatic cell count in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 100 (1): 244-252. doi: 10.3168/jds.2016-11017.
- Tirado-González, D. N., L. Miranda-Romero, A. Ruíz-Flores, S. Medina-Cuéllar, R. Ramírez-Valverde, y G. Tirado-Estrada. 2018. Meta-analysis: Effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. *Journal Apply of Animal Research*, 46: 771-783. doi: 10.1080/09712119.2017.1399135.
- Vargas, O. 2014. Efecto de dos niveles de proteína cruda y suplementación con hidroxianálogo de metionina en el desempeño productivo de vacas lecheras. Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. 37 pp.
- Wallace, R., S. Wallace, N. Mckain, V. Nsereko, y F. Hartnell. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganismos in vitro. *Journal of Animal Science*, 79 (7): 1905-1916. doi: 10.2527/2001.7971905x.
- Wu, G., M. Bryant, R. Voitle, y D. Roland. 2005. Effects of β -mannanase in corn-soy diets on commercial leghorns in second-cycle hens. *Poultry Science*, 84 (6): 894-897. doi: 10.1093/ps/84.6.894.
- Yang, W., K. Beauchemin, y L. Rode. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cows diets. *Journal of Dairy Science*, 83: 2512-2520. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75143-5.
- Zyl, W., S. Rose, K. Trollope, y J. Gorgens. 2010. Fungal α -mannanases: Mannan hydrolysis, heterologous production and biotechnological applications. *Process Biochemistry Journal*, 45: 1203-1213. doi: 10.1016/j.procbio.2010.05.011.