

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Utilización de la enzima β -mananasa en dietas de vacas Jersey en lactancia temprana.

Andrés Cordero Vargas

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2015

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

<hr/> Ing. Augusto Rojas Bourrillón, M.Sc.	Director de tesis
<hr/> Ing. Alejandro Saborío Montero, Lic.	Miembro del tribunal
<hr/> Ing. Carlos Campos Granados, Lic.	Miembro del tribunal
<hr/> Ing. Jorge Elizondo Salazar, Ph.D.	Miembro del tribunal
<hr/> Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M.Sc.	Director de Escuela
<hr/> Ing. Andrés Cordero Vargas, Bach.	Sustentante

DEDICATORIA

Quiero dedicarle esta tesis a mi padres por su apoyo incondicional durante todo mis años en la universidad y a los Clements por haberme introducido al mundo agropecuario.

AGRADECIMIENTO

Primero que todo quiero agradecer a Dios por darme salud y la oportunidad de estudiar y finalizar mis estudios.

Quiero agradecer a mis padres, Arturo Cordero y Marianela Vargas, por todo el apoyo durante estos años en la universidad, sin ellos no lo hubiera logrado.

Quiero agradecer a mi profesor tutor, don Augusto Rojas, por haber trabajado conmigo en este proyecto y por su excelente labor como guía.

Quiero agradecer a mis amigos y compañeros Andrés Trejos, Jimmy Arrieta, Omar Vargas, Juan Arroyo, Marian Solano, Jennifer Rivera, y todos mis amigos de la Zootecnia por acompañarme todos estos años con risas, desveladas, tristezas, y muchas alegrías durante esta hermosa carrera.

Quiero agradecer a la Escuela de Zootecnia por todo su trabajo para poder brindarme a mi y a todo los estudiantes una excelente educación.

Quiero agradecer a don Julio y Álvaro Sancho por haber prestado su finca para realizar este experimento y por sus incontables aportes. Además, a todo el personal del Plantón, en especial don Johnny Calderón que en el día a día me estuvo apoyando y aportando, al igual que Jonathan y Beto.

Quiero agradecer a la empresa CTC Bio Inc., por brindarme la oportunidad de realizar este experimento y a Jung Jin Lee por todo el apoyo brindado.

Quiero agradecer a todas las personas que de alguna u otra forma aportaron para que mi tesis se pudiera llevar a cabo, como a los del laboratorio del CINA y Dos Pinos.

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EVALUADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	4
a. General:	4
b. Específicos:	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
1. <i>Enzimas en nutrición animal</i>	5
2. <i>β-mananos y su hidrólisis</i>	8
3. <i>Respuesta animal</i>	11
MATERIALES Y MÉTODOS	14
1. <i>Diseño de experimento, animales y dietas</i>	14
2. <i>Recolección y análisis de datos</i>	15
3. <i>Muestras de alimento y pasto</i>	16
4. <i>Análisis estadístico</i>	16
5. <i>Descripción del análisis de varianza</i>	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
1. <i>Composición nutricional de alimentos</i>	18
2. <i>Composición de la leche y conteo de células somáticas</i>	19
3. <i>Composición mineral y nitrógeno ureico en leche</i>	20
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
LITERATURA CITADA	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Cantidad de mananos en ingredientes utilizados en alimentos para animales....	9
2. Pesa de leche, días de lactación y número de lactancia por grupo de animales al inicio del experimento.....	15
3. Ingredientes de la dietas de las vacas experimentales con sus respectivas cantidades.....	18
4. Composición nutricional de los principales alimentos utilizados en la dieta de los animales durante el periodo experimental.	19
5. Valores de las variables evaluadas en los tres grupos experimentales.....	20
6. Valores promedio de nitrógeno ureico (NUL, mg/dl) y minerales en leche (mg/l) de los tres grupos	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Concentración de calcio en leche por grupo experimental.	22
2. Concentración de fósforo en leche por grupo experimental.....	23
3. Concentración de magnesio en leche por grupo experimental.	24
4. Concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL) por grupo experimental.	25

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. Se utilizó un análisis de covarianza de medidas repetidas con un modelo lineal mixto analizado con el software estadístico SAS para determinar la significancia de los posibles efectos del uso de la enzima β -mananasa. 27 vacas Jersey en pastoreo se distribuyeron con base en producción de leche, días en lactación y número de lactación en 3 grupos experimentales: 0%, 0,1% y 0,2% de la enzima β -mananasa del alimento balanceado en términos de materia seca. Las variables analizadas fueron: producción de leche (kg.día^{-1}), leche corregida a 4% grasa, porcentaje y kilogramos de sólidos totales, grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos, contenido de células somáticas (cs.ml^{-1}), calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y nitrógeno ureico en leche (NUL). Al concluir el periodo experimental no se encontraron diferencias significativas en las variables evaluadas ($p>0,05$), esto asociado al bajo contenido de mananos de la dieta experimental (21,12-29,46 g.animal.día^{-1}). Sin embargo, los contenidos de Ca, P y Mg de los animales consumiendo enzima fueron mayores al del grupo control. Además, el valor de NUL en los grupos experimentales se mantuvo por debajo del grupo control. El efecto de la semana de tratamiento fue significativa, sin embargo este parámetro no se utilizó en este estudio. Por esta razón se recomienda utilizar animales con lactaciones completas en futuros estudios tomando en cuenta la semana de lactación para evaluar el efecto de la enzima sobre la misma. Se requiere de mayor estudio para determinar su posible uso en la alimentación de rumiantes.

INTRODUCCIÓN

Los mananos 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). También generan una depresión en el sistema inmune del animal. 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 vacuna 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-oligosacaridos, 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 mananos (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 la 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).

En cuanto a rumiantes en producción lechera, 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 sobre la productividad de las vacas lecheras.

OBJETIVOS

a. General:

Determinar el efecto del uso de la enzima β -Mananasa en vacas Jersey en lactación temprana sobre el rendimiento productivo, composición láctea y valores de nitrógeno ureico en leche (NUL).

b. Específicos:

1. Determinar el efecto de la inclusión de 0, 0,1 y 0,2% (en base seca) de la enzima β -mananasa en el alimento balanceado sobre la producción y composición nutricional de la leche.
2. Determinar el efecto de los diferentes niveles de inclusión de la enzima β -mananasa sobre la concentración de NUL.
3. Cuantificar el efecto de los diferentes niveles de inclusión de la enzima β -mananasa sobre el conteo de células somáticas en leche.
4. Determinar el efecto de los diferentes niveles de inclusión de la enzima β -mananasa sobre la concentración de calcio, fósforo y magnesio en leche.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. *Enzimas en nutrición animal*

Las enzimas son proteínas complejas que producen un cambio químico específico en otras sustancias, sin que exista un cambio en ella misma. Éstas son capaces de romper enlaces de ciertas sustancias, como los componentes de los alimentos, para transformarlas en partículas más sencillas capaces de ser absorbidas o aprovechadas por el animal (Ravindran 2010).

Las enzimas son indispensables por todos los animales para digerir los alimentos. Éstas pueden ser producidas por el mismo animal, o por microorganismos presentes naturalmente en su sistema digestivo. Sin embargo, este proceso digestivo en los animales no es 100% eficiente. Al suplementar la dieta de los animales con enzimas específicas (enzimas exógenas) se incrementa el valor nutricional de los ingredientes, aumentando la eficiencia de la digestión y así la producción. Desde 1980, las enzimas exógenas han sido de gran ayuda para mejorar la producción de carne y huevo por medio de un cambio en el perfil nutricional de los ingredientes del alimento (Bedford y Partridge 2011).

Las enzimas que son utilizadas en alimentación animal corresponden a enzimas que ejercen su acción en el aparato digestivo. Cada transformación que experimentan los alimentos en el sistema digestivo está asociada a un tipo específico de la enzima, debido a que cada una actúa sobre un solo tipo de alimento o de compuesto. De esta forma la Xilanasas hidroliza los Arabinoxilanos como la α -galactosidasas los oligosacáridos (Ravindran 2010).

El valor nutritivo potencial de las materias primas esta limitado debido a la presencia de factores antinutricionales y a la falta de enzimas digestivas que rompan o hidrolicen los enlaces químicos para permitir la liberación de los nutrientes (Ravindran 2010). La adición de enzimas en la dieta ayudan a hidrolizar estos factores anti nutricionales (fibra, fitatos, entre otros), que pueden interferir con la digestión

normal, lo que podría resultar en una disminución en la producción (huevo, carne, entre otros) y una menor eficiencia alimenticia, también podría generar malestares digestivos. De esta forma estas enzimas son utilizadas para aumentar la disponibilidad de la fibra, almidón, proteína, aminoácidos y minerales como fósforo y calcio (Bedford y Partridge 2011). Varios factores pueden afectar el desempeño de las enzimas; la temperatura y el pH del medio, la concentración del sustrato y otros factores fisicoquímicos deben ser tomados en cuenta. El pH es factor limitante en cuanto al sistema digestivo (Ravindran 2010).

Como se mencionó anteriormente, el objetivo principal del uso de enzimas en la alimentación animal es incrementar el aprovechamiento de los nutrientes en el alimento. Sin embargo, granos como el maíz poseen variabilidad genética sobre la digestibilidad de nutrientes, es por esto que el impacto que tenga la enzima dependerá de la digestibilidad intrínseca del sustrato. El grado de aprovechamiento del nutriente es generalmente aumentado en mayor proporción por las enzimas exógenas en dietas con granos de baja digestibilidad intrínseca que en dietas de granos de alta digestibilidad intrínseca (Pariza y Cook 2010).

Los fitatos son un ejemplo de factor antinutricional que se encuentra presente en un amplio rango de ingredientes para elaborar alimentos para aves y cerdos. Por esta razón se utilizan enzimas como la fitasa con estos ingredientes, que actúan sobre el fósforo unido a los fitatos, liberándolo y así poder disminuir su inclusión en la dieta. También disminuye la excreción del mismo, reduciendo el impacto al medio ambiente (Selle y Ravindran 2007). En aves de engorde se ha visto que al suplementar esta enzima se obtienen mayores ganancias de peso y mejoras en eficiencia alimenticia (Liu *et al.* 2014).

La utilización de enzimas en la alimentación animal se ha enfocado en monogástricos, no obstante los rumiantes también se pueden beneficiar de la inclusión de estas. La adición de fitasas, de la misma forma que en monogástricos, incrementa la utilización de fósforo reduciendo la necesidad de suplementación con fosfato inorgánico y de problemas ambientales a causa de la excreción de fosfato orgánico (Pariza y Cook 2010).

El modo de acción difiere entre enzimas. A pesar de la creciente aceptación de su uso como aditivo para alimentos concentrados, el mecanismo de acción de muchas enzimas en la alimentación animal esta todavía por resolver. Ravindran (2010), menciona que el consenso entre los investigadores es que uno o más de los siguientes mecanismos son los responsables de las mejoras observadas en producción:

- Degradación de enlaces específicos de los ingredientes que no son correctamente hidrolizados por enzimas endógenas,
- Degradación de factores antinutritivos que disminuyen la digestibilidad y/o incrementan la viscosidad del alimento,
- Ruptura de la pared celular y liberación de nutrientes unidos a dicha pared,
- Cambio en la digestión de nutrientes hacia lugares mas eficientes,
- Reducción de secreciones y perdidas de proteínas endógenas en el intestino, reduciendo las necesidades de mantenimiento,
- Reducción del peso del tracto intestinal y cambios en la morfología intestinal,
- Cambios en el perfil de la microflora del intestino delgado y grueso. Como las enzimas tienen una influencia directa sobre la cantidad y forma de los sustratos presentes en el tracto digestivo, su uso tiene un impacto directo sobre las poblaciones microbianas del mismo, y/o
- Aumento de las enzimas digestivas endógenas, que son insuficientes o inexistentes en el animal, resultando en una mayor digestión. Especialmente en animales jóvenes con sistemas digestivos inmaduros.

La mayoría de estudios de uso de enzimas realizados en rumiantes con respecto a la producción láctea específicamente son β -glucanasa, celulasa y xylanasa, para aumentar la digestibilidad de la fibra, ya que repercute en un aumento sobre el consumo de energía digestible por el animal (Bedford y Partridge 2011).

Wallace *et al.* (2001) reportan aumentos en digestibilidad de la materia seca y en producción de leche, sin embargo el consumo no fue afectado.

2. β -mananos y su hidrólisis

Los mananos se encuentran en varios ingredientes utilizados en la alimentación animal como lo son la soya, cascarilla de soya, semilla de girasol y subproductos de palma africana (Martínez *et al.* 2013). El uso de harina de soya como del grano entero (sin la extracción de sus aceites) es casi universal como fuente de proteína, por lo que los mananos se encuentran presentes en la gran mayoría de las dietas para animales alrededor del mundo (Hsiao *et al.* 2006). El contenido de mananos de algunos ingredientes utilizados para la producción de alimentos balanceados se presenta en el Cuadro 1. El contenido de mananos en los ingredientes es variable. En el caso de la harina de soya, los mananos varían entre 1,02 y 1,51% si no contiene cáscara, mientras que si se incluye el valor aumenta a valores entre 1,33 y 2,14%. La inclusión de cáscara aumenta los valores de este carbohidrato aunque el contenido de cascara en la harina de soya con cáscara es de 5 a 6% (Hsiao *et al.* 2006).

Los mananos y heteromananos son parte de la fracción de hemicelulosa de la pared celular en todas las leguminosas. Acorde a la definición, la hemicelulosa incluye mananos, xylanos, galactanos y arabinosa (Bedford y Partridge 2011). Los mananos en las plantas están constituidos por 4 tipos de polisacáridos que son los mananos lineales, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos, estos se encuentran unidos por enlaces β -1,4-glicosídicos (Huang *et al.* 2014). Un manano puro es un polímero de manosa el cual contiene más de 95% de manosa. La presencia de galactosa, glucosa y de ambas galactosa y glucosa en las cadenas secundarias forman galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos respectivamente (Sundu y Dingle 2003). Las hexosanas, tales como los mananos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos, los cuales solo son solubles en soluciones alcalinas fuertes. Esto significa que estos carbohidratos son

sobrepasantes a nivel ruminal y muy probablemente a nivel intestinal (Navarrete 2008).

Cuadro 1. Cantidad de mananos en ingredientes utilizados en alimentos para animales.

Ingredientes	Mananos, %
Harina de coquito	30-35
Harina de coquito (Centro América)	28-32
Harina de coco.	25-30
Harina de coco (Sur Este de Asia)	21-25
Cascarilla de soya	8,00
Harina de soya (44%)	1,50-1,80
Harina de soya (48%)	1,20-1,30
Harina de soya (mezcla)	2,14
Centeno	0,69
Harina de maní	0,51
Harina canola	0,49
Harina semilla de algodón	0,36
Salvado de arroz	0,32-2,92
Avena	0,30
Destilado de maíz	0,27
Afrecho de trigo	0,15
Trigo	0,10
Harina de cebada	0,10
Maíz	0,10-0,50
Tapioca	0,42
Sorgo	0,09
Salvado de trigo	0,07

Adaptado de Lee (2014).

Las diferentes configuraciones de mananos son componentes de la superficie de varios patógenos incluyendo hongos, bacterias y virus. Existe un sistema inmune innato en los animales que está programado para reconocer de manera rápida antígenos en patógenos, incluyendo en especial los mananos (Hsiao *et al.* 2006). La respuesta inmune inducida por el alimento como respuesta a los β -mananos es potencialmente una amenaza para los rendimientos zootécnicos y para la uniformidad de los lotes de aves como de cerdos. Los galactomananos pueden ser reconocidos por la mucosa intestinal y considerados por el sistema inmune como moléculas

asociadas a agentes patógenos. Como consecuencia, provocan en el intestino una respuesta inmune, lo cual tiene un alto costo de energía y de otros nutrientes importantes como aminoácidos. La respuesta inmunitaria asociada a alimentos aumenta el costo de mantenimiento y esto genera una pérdida del potencial productivo y de crecimiento (Martínez *et al.* 2013).

Existen al menos dos tipos de mananasas, cuya clasificación se basa en el sitio de lisis en el proceso hidrolítico, éstas son la endo y las exo mananasas. Las exo-mananasas son capaces de remover uno o más mananos al final de las cadenas de polisacáridos, mientras que las endo-mananasas pueden romper enlaces al azar en la cadena (Sundu y Dingle 2003). Para poder degradar los mananos un grupo de enzimas es requerido, incluyendo endo- β -1-4-mananasa, exo- β -mananosidasa para liberar la cadena principal, y β -glucosidasa, α -galactosidasa y acetil manano esterasa para remover cadenas adheridas. Entre estas enzimas, la β -mananasa, cataliza la hidrólisis de enlaces manano-glicosídicos en la cadena principal, por lo que se considera como la enzima esencial (Huang *et al.* 2014).

Uno de los principales productos de esta enzima al actuar sobre los mananos son los mananooligosacáridos (MOS). Recientemente se han utilizado como aditivo en la nutrición animal debido a que poseen propiedades prebióticas (Huang *et al.* 2014). Los MOS utilizados como aditivo son producidos a partir de paredes de levaduras. Los beneficios están basados en propiedades que incluyen cambios en la flora intestinal, reducción en la tasa de recambio de la mucosa intestinal, y la modulación del sistema inmune a nivel intestinal (Sims *et al.* 2004). Estudios *in vitro* han demostrado que diferentes patógenos entéricos en presencia de levaduras exógenas como fuente de MOS, se adhieren a estos compuestos presentes en el lumen intestinal en lugar que al epitelio evitando así su colonización. Esto sugiere que la suplementación con MOS puede reducir el número de bacteria dañinas a nivel intestinal si la exposición a patógenos es alta (White *et al.* 2001). Spring *et al.* (2000) probaron la capacidad de adherencia o aglutinación de MOS con diferentes cepas de bacterias, y obtuvieron como resultado que 5 de cepas de *Escherichia coli* y 7 de 10

cepas de *Salmonella enteritidis* se aglutinaron. Las cepas restantes y *Campylobacter* no se aglutinaron.

En cerdos al destete, se ha comprobado que al suplementar MOS en la dieta (0,2% de MOS de la MS del alimento) se puede obtener mejoras en eficiencia alimenticia en 9,5% y consistencias de heces, además de una disminución de recuentos de enterobacterias en 11,8% (Castillo *et al.* 2007). Se considera que en dietas de lechones en periodo de destete, la suplementación de MOS puede generar efectos benéficos al estabilizar la microflora en el tejido gastrointestinal (Su-qin y Wei-yun 2012). Mientras que en pollos de engorde se reporta (0,2% de MOS) mejoras en la morfología intestinal, como en ecología microbial reduciendo el conteo de *E. Coli* y *Campylobacter* (Baurhoo *et al.* 2009). También se reportan mejoras en consumo, ganancias de peso diario, conversión alimenticia y mortalidad (Flemming *et al.* 2004). En el sector lechero, Franklin *et al.* (2005) evaluaron el uso de MOS en vacas secas sobre parámetros inmunitarios, se vacunaron los animales contra rotavirus y posteriormente se evaluó el efecto en la adquisición de anticuerpos. Además, se evaluó la transferencia de inmunidad del virus a los terneros. Se reportó que al suplementar MOS hubo un aumento en la respuesta inmune de las vacas al rotavirus y tendió a aumentar la transferencia de anticuerpos del rotavirus a los terneros.

3. Respuesta animal

Debido a que el principal uso de la β -mananasa ha sido en producción de monogástricos, el mayor número de investigaciones ha sido en esta área. Es recomendado utilizar esta enzima en dietas que contengan más de 0,2% de mananos de la MS de la ración total por día del animal para que pueda tener el efecto esperado¹. En diferentes estudios los resultados han sido positivos en una amplia gama de indicadores productivos. Cho y Kim (2013), analizaron la inclusión de la enzima (0% y 0,04%) en dietas bajas y altas en energía en pollos de engorde. Ellos concluyeron que la adición de β -mananasa en las dietas altas en energía puede mejorar el crecimiento. Mientras que en dietas bajas en energía pueden parcialmente

¹ Comunicado personal: Jung Jin Lee, 2015. CTCbio, Corea.

mejorar las ganancias de peso, conversión alimenticia, digestibilidad de nutrientes y el peso relativo de la pechuga, además de disminuir la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero sanguíneo.

En Costa Rica, Trejos (2015) estudió la inclusión de la enzima (0,05%) en aves ponedoras, obteniendo como resultado mejorías en el índice de conversión alimenticia ($p < 0,01$) y un mayor grosor de cascara ($p < 0,05$), sin embargo no se reportó diferencias significativas en la producción de huevo ($p > 0,05$).

Por otro lado, en el ámbito porcino, se ha reportado que al suplementar animales en desarrollo con la enzima β -mananasa (400 U de β -mananasa/ kg) el potencial de mejora para ganancias de peso y la digestibilidad aparente total del tracto de nutrientes aumenta, además se considera que puede proveer un equivalente de 86 kcal de energía metabolizable (EM) (Kim *et al.* 2013). Mok *et al.* (2013) también reportaron aumento en la digestibilidad de nutrientes orgánicos, y en menor grado un aumento en la digestibilidad de aminoácidos al utilizar la enzima (0 y 1600 U/kg) en cerdos en el periodo de engorde.

Otros experimentos se han realizado en animales de compañía. Felix *et al.* (2012), utilizaron la enzima β -mananasa (0 y 0,01%) en una dieta de harina de soya y otra con subproductos de pollo en perros de raza Beagle. Obtuvieron como resultado una reducción en el volumen fecal, y aumento en la digestibilidad de la energía y la proteína en la dieta.

El efecto de la enzima β -mananasa en rumiantes es muy limitada y específicamente en producción de leche es nula. Nabté (2009) realizó un estudio en reemplazadores de leche para terneros en el cual comparó la inclusión de proteína del suero contra proteína de soya con la enzima (30 000 y 50 000 U/kg). Al sustituir el 50% de la proteína del suero de la leche de la formulación por proteína de soya y agregando la enzima no se encontró ningún efecto significativo en el crecimiento del ternero y en su salud. Sin embargo, si se disminuyeron los costos de producción del reemplazador, y por consiguiente los costos de alimentación.

En un estudio reciente, Lee *et al.* (2014) utilizaron la enzima β -mananasa (800,000 U/kg of MS en el producto comercial) en cabras nativas de Corea. La dieta utilizada estuvo conformada por una relación 60:40 de alimento balanceado y pasto o material fibroso. Se utilizó como dosis de enzima un 0,1% y 0,3% del concentrado en términos de la materia seca. Se observó un aumento en ganancias diarias de peso y retención de nitrógeno con respecto al grupo control, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre dosis de la enzima.

MATERIALES Y MÉTODOS

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 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.

1. *Diseño de experimento, animales y dietas*

Se utilizó un análisis de covarianza de medidas repetidas en el cual treinta vacas Jersey fueron agrupadas de acuerdo a la producción de leche, días de lactancia, y número de parto a los siguientes 3 tratamientos con 10 repeticiones cada uno: 1) 0%, 2) 0,1% y 3) 0,2% de suplementación de la dieta en términos de materia seca del alimento balanceado con la enzima β -mananasa. El producto comercial de β -mananasa (800,000 U/kg de MS) (CTCZYME®, CTC Bio Inc., Seoul, Corea) derivado de *Bacillus subtilis* fué utilizado. Se consideró una semana de adaptación previa al periodo experimental el cual tuvo una duración de 12 semanas. Tres animales fueron eliminados del estudio posteriormente por problemas de mastitis (un animal del grupo 0,2% de enzima y dos animales en el grupo control). En el Cuadro 2 se presentan los datos de agrupación en la semana de adaptación sin incluir los animales eliminados posteriormente.

Los animales estuvieron en pastoreo en potreros de kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) con una recuperación promedio de 33 días. La suplementación diaria de las vacas en experimentación estuvo conformada por alimento balanceado comercial Vap-feed® en una relación de 3:1 (kg de leche: kg de concentrado); 1,3 kg de

Citrocom®; 1,3 kg de Fibrocom® y 1 kg de melaza. Se agregó a la ración pasto de corta de ryegrass y heno de pasto Transvala en ciertas ocasiones.

Cuadro 2. Pesa de leche, días de lactación y número de lactancia por grupo de animales al inicio del experimento.

Grupo	Pesa de leche	Días en lactancia	Número de lactación.
0,00%	26,55	62,3	4,5
0,10%	26,10	66,5	4,6
0,20%	25,65	59,9	4,5

El producto comercial utilizado se pesó (0,1% y 0,2% de la materia seca) en una balanza digital según la cantidad de alimento Vap-feed® que sería suministrada a cada animal. Los animales recibieron de manera individual la enzima mezclada de forma manual con el alimento balanceado antes de cada ordeño todos los días durante el periodo de adaptación y experimental. La enzima se brindó todos los días, a las 4 a.m. y a las 4 p.m. Las vacas tuvieron acceso a agua antes del ordeño y en la mayoría de los potreros.

2. *Recolección y análisis de datos*

Se analizó la concentración de mananos en el Vap-feed®, Citrocom® y el Fibrocom®, utilizando una prueba de cromatografía líquida de alta resolución (HPCL) en el laboratorio de la empresa CTC Bio Inc., Seoul, Corea. Se llevó un registro de producción de leche diaria semanal por animal, que fue tomada los días lunes de cada semana. Se realizó un muestreo semanal de leche por animal para analizar el contenido de sólidos totales y el conteo de células somáticas. Las muestras de leche fueron colectadas en el ordeño de la mañana los días lunes para ser analizadas para composición con un equipo Milko-Scan®. De igual forma se tomaron muestras de leche por animal en el ordeño de la mañana en las semanas 2, 5, 8, 12 para determinar la concentración de calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y el NUL. Para el análisis del contenido de Ca y Mg en leche se utilizó un método espectrofotométrico

de absorción atómica con atomizador de llama (FAAS), mientras que para la medición de la concentración de P se analizó mediante espectrofotometría UV-VIS. Se utilizó para el análisis de NUL una técnica de digestión enzimática y posteriormente una prueba espectrofotométrica.

Además, se calculó la producción de leche corregida al 4% de grasa mediante la ecuación propuesta por Gaines (1928):

$$[(0,4 \times \text{kg leche.día}^{-1}) + (15 \times \text{kg grasa.día}^{-1})].$$

3. Muestras de alimento y pasto

Se estimó el consumo de pasto de manera quincenal determinando la disponibilidad de forraje por medio de la técnica Botanal[®], realizándolo prepastoreo y postpastoreo (Hargreaves y Kerr 1978). Además, se muestreó de manera mensual el pasto de los potreros para medir la composición nutricional de este. De la misma forma se realizaron muestreos mensuales de los principales suplementos de la dieta. Esto para identificar un posible cambio de la dieta de los animales experimentales que pudiese afectar los resultados. Se tomó en cuenta el alimento balanceado Vap-feed[®], Fibrocom[®], Citrocom[®] y melaza. Se estimó la energía neta de lactancia (EN_L) (NRC 2001; Weiss 2004), materia seca (MS), proteína cruda (PC), lignina, extracto etéreo (EE), cenizas (AOAC 2012), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente acida (FDA) (Van Soest *et al.* 1991).

4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de covarianza utilizando el promedio de producción obtenido antes del inicio de la prueba (semana 0), con el objetivo de ajustar las medias según tratamiento. Esto se realizó de igual manera para las siguientes variables evaluadas: producción de leche, producción de leche corregida a 4% de grasa, grasa, proteína, lactosa, sólidos totales y sólidos no grasos.

5. Descripción del análisis de varianza

Se ajustó un análisis de covarianza de medidas repetidas con un modelo lineal mixto (PROC MIXED) con el software estadístico SAS (SAS Institute, 2004) para determinar la significancia de los efectos del uso de la enzima β -mananasa. Además, se utilizó como covarianza el dato recolectado en la semana cero. El modelo utilizado fue:

$$y_{ijkl} = \mu + V_i + S_j + T_k + \beta(x_{ijkl} - \bar{x}_{..}) + \varepsilon_{ijkl}$$

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} .

$\bar{x}_{..}$: Media de los valores x_{ijkl} .

ε_{ijkl} : Error aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Composición nutricional de alimentos

La dieta suministrada a los animales y el contenido nutricional de los ingredientes de la misma durante el periodo experimental se encuentran en la Cuadro 3 y 4 respectivamente. Estos no presentaron variaciones importantes que pudiesen afectar el resultado de este experimento. El consumo calculado de material seca (MS) de la ración total varió entre 17,3 y 19,9 kg dependiendo del consumo de alimento balanceado.

Cuadro 3. Ingredientes de la dietas de las vacas experimentales con sus respectivas cantidades.

Ingredientes	MF.d ⁻¹ , kg.	MS.d ⁻¹ , kg.
Vap-feed [®]	6-9	5,3-7,9
Citrocom [®]	1,3	1,1
Fibrocom [®]	1,3	1,1
Melasa	1,0	0,7
Pasto Kikuyo	59,2	9,1

MF: Materia Fresca. MS: Materia seca.

La composición nutricional promedio de la ración total de los animales en experimentación fue de 26,5% de MS, 18,3% de proteína cruda (PC), 35,3% de fibra detergente neutral (FDN), 17,3% de fibra detergente ácida (FDA) y 1,79 Mcal EN_L.kg MS⁻¹.

En cuanto al nivel de mananos en el concentrado, se determinó que el Vap-feed[®] contenía 0,32% ($\pm 0,007$), el Fibrocom[®] un 0,27% ($\pm 0,009$) y el Citrocom[®] un 0,11% ($\pm 0,01$).

Cuadro 4. Composición nutricional de los principales alimentos utilizados en la dieta de los animales durante el periodo experimental.

Feed	MS ^a , %	EN _L ^b , Mcal	PC ^c , %	EE ^d , %	Ceniza, %	FND ^e , %	FAD ^h , %	Lignina, %
Vap-feed [®]	87,5	2,0	17,2	4,6	5,1	15,3	7,0	0,5
Citrocom [®]	89,0	1,9	6,2	7,1	6,9	22,6	19,62	2,8
Fibrocom [®]	88,2	1,8	13,0	6,4	5,2	33,3	22,6	3,3
Kikuyo	15,6	1,65	22,8	3,8	10,1	54,3	25,3	1,4

^aMS: materia seca.

^bEN_L: energía neta de lactancia, Mcal. kg MS.-1

^cPC: proteína cruda.

^dEE: extracto etéreo.

^eFND: Fibra neutra detergente.

^hFAD: Fibra acida detergente.

2. Composición de la leche y conteo de células somáticas

Bajo las condiciones en que se realizó el ensayo no se encontró ningún efecto significativo del tratamiento sobre las variables evaluadas ($p > 0,05$) (Cuadro 5). El análisis estadístico determinó significativos la interacción entre el tratamiento y la semana experimental para las variables porcentaje de sólidos no grasos y células somáticas, sin embargo la significancia del tratamiento no lo fue ($p > 0,05$) por lo que este resultado no se consideró de interés. De forma similar, el factor semana mostró significancia pero no fue de importancia ya que no se utilizó para el acomodo de los animales en los grupos. Los animales en los grupos se encontraron en diferentes semanas de lactación. Se considera importante para estudios posteriores evaluar el factor semana utilizando animales desde el momento del parto hasta el momento del secado, y así estimar el efecto de la enzima durante la lactación. De esta manera se podrá comparar semana a semana las variables a evaluar, y si fuese el caso, se podría identificar el impacto de la enzima en lactación temprano, media y tardía de esta forma.

Cuadro 5. Valores de las variables evaluadas en los tres grupos experimentales.

Variable	Niveles de enzima (% de MS del concentrado)			DE ^b	p' ^a		
	0,00%	0,10%	0,20%		Trat	Sem	Trat x Sem
Producción, kg/d							
Leche	25,61	25,20	25,64	1,02	0,94	0,001	0,90
4% GC ^c	25,54	24,38	25,04	0,77	0,57	0,002	0,84
Grasa	1,02	0,95	0,98	0,05	0,57	0,001	0,56
Proteína	0,91	0,86	0,91	0,03	0,47	0,001	0,42
Lactosa	1,27	1,23	1,26	0,05	0,88	0,001	0,78
ST ^d	3,34	3,20	3,31	0,10	0,56	0,001	0,99
SNG ^e	2,32	2,24	2,33	0,08	0,73	0,001	0,50
Composición, %							
Grasa	4,02	3,88	3,89	0,24	0,91	0,001	0,18
Proteína	3,53	3,43	3,57	0,10	0,57	0,001	0,67
Lactosa	4,96	4,89	4,91	0,05	0,63	0,001	0,69
ST	13,10	12,82	12,97	0,30	0,83	0,001	0,33
SNG	9,09	8,94	9,08	0,11	0,60	0,001	0,03
CS ^f	57 795,00	240 499,00	185 468,00	68 999,00	0,19	0,090	0,01

p' ^a: Probabilidad de un efecto significativo debido a la suplementación con β -mananasa (Trat), semana (sem) y su interacción (Trat x Sem).

DE^b: Desviación estándar.

4% GC^c: leche corregida a 4 % de grasa.

ST^d: Sólidos totales.

SNG^e: Sólidos no grasos.

CS^f: Células somáticas, cs/ml.

3. Composición mineral y nitrógeno ureico en leche.

Los valores promedio de la composición mineral y NUL se muestran en el Cuadro 6. El comportamiento de los resultados obtenidos para la concentración de Ca, P y Mg pueden observarse en las Figuras 1, 2 y 3 respectivamente. El grupo control (sin enzima) obtuvo valores inferiores a los grupos con suplementación ($p > 0,05$). El aumento en la deposición de Ca, P y Mg en la leche podría implicar que la suplementación con β -mananasa aumentó su absorción, la cual podría estar ligada a una liberación de manano-oligosacaridos (MOS) en el tracto digestivo como lo propuso Nochta *et al.* (2010). Estos determinaron que al adicionar $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de MOS en lechón al destete aumentó significativamente la digestibilidad de Ca y P en 8,4 y 7,7%, respectivamente. De manera similar Bovera *et al.* (2015) reportaron que al

suplementar MOS en conejos de engorde, la eficiencia alimenticia aumentó linealmente al incrementar la dosis (0,05; 0,1; 0,15%), esto explicado por un incremento cuadrático en la digestibilidad de la MS, fibra crida, FND, FAD, celulosa y lignina al aumentar la dosis.

Cuadro 6. Valores promedio de nitrógeno ureico (NUL, mg/dl) y minerales en leche (mg/l) de los tres grupos.

Variable	Niveles de enzima (% de MS del concentrado)			DE	p' ^a		
	Control	0,10%	0,20%		Trat	Sem	Trat x Sem
NUL ^b	18,83	18,2	17,3	0,8	0,37	0,001	0,69
Ca ^c	1287,1	1298,6	1322,9	30,6	0,7	0,001	0,46
P ^d	145,3	159,6	162,1	6,7	0,18	0,04	0,22
Mg ^e	119,7	118,0	125,1	3,4	0,31	0,27	0,83

p' ^a: Probabilidad de un efecto significativo debido a la suplementación con β -mananasa (Trat), semana (sem) y su interacción (Trat x Sem).

NUL^b: Nitrógeno ureico en leche.

Ca^c: Calcio

P^d: Fósforo

Mg^e: Magnesio

Los valores del NUL a través del periodo experimental mostraron un comportamiento numérico similar al de Ca, P y Mg en leche comentados anteriormente. A diferencia de los valores mostrados de Ca, P y Mg, el valor del NUL en los grupos con enzima mostraron valores inferiores al grupo control (Figura 4). 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, así obteniendo 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 MOS los cuales poseen varios efectos prebióticos

en el tracto gastrointestinal (Huang *et al.* 2014). Nochta *et al.* (2010) al adicionar $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ 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. En conejos de engorde, Bovera *et al.* (2015) reportan que al suplementar MOS, digestibilidad de la PC incrementa de manera cuadrático al aumentar la dosis de 0,05 a 0,15% de la materia seca de la dieta.

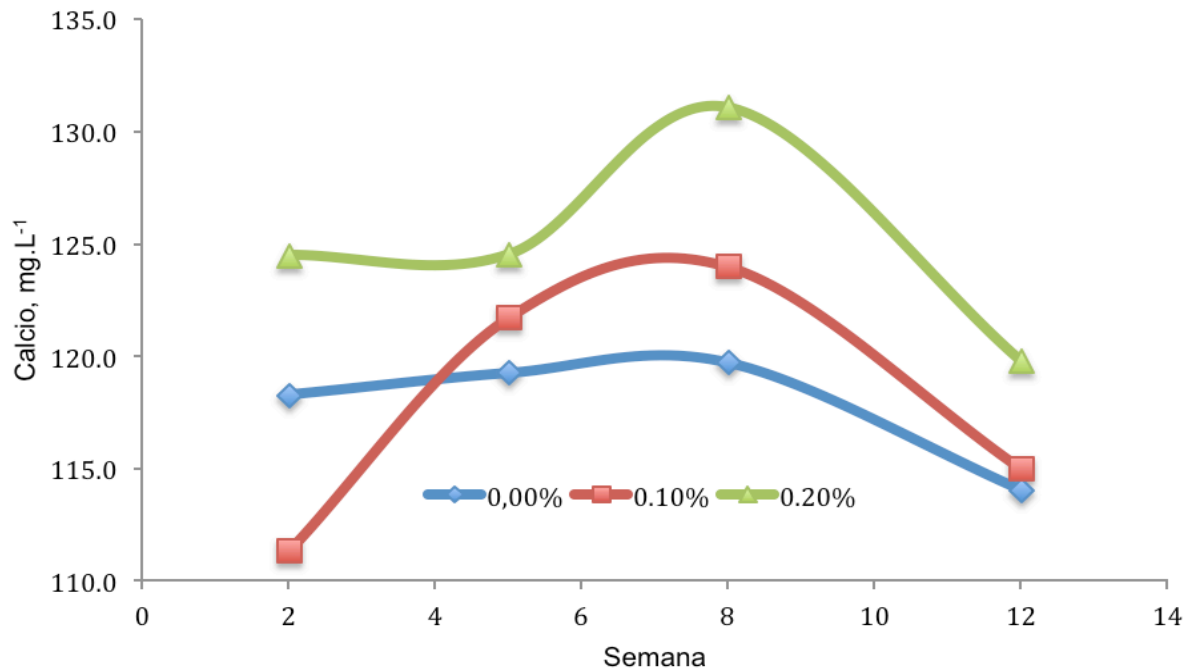


Figura 1. Concentración de calcio en leche por grupo experimental.

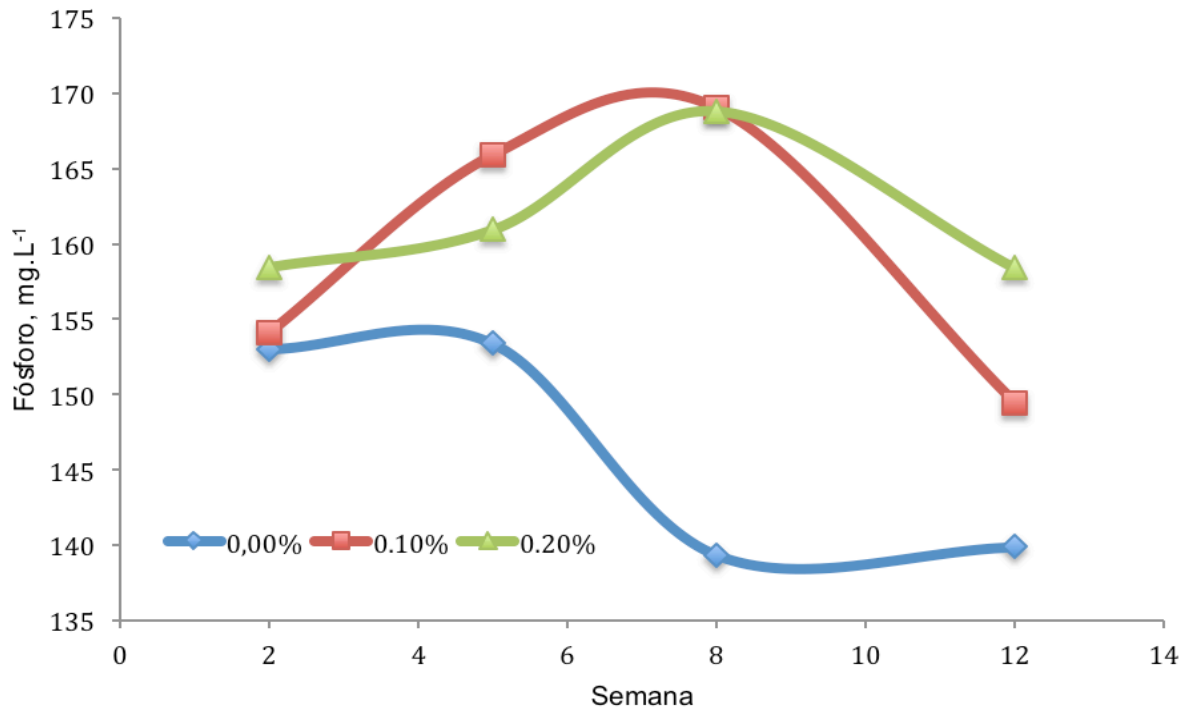


Figura 2. Concentración de fósforo en leche por grupo experimental.

Los valores de NUL obtenidos en este experimento (Cuadro 6) son muy similares a el reportado por Gonzales (2014), el cual fue de $18,55 \text{ mg.dl}^{-1}$ para vacas de raza Jersey. Por lo que se considera que los valores presentados en el presente experimento son normales, inclusive menores (grupo con enzima). Gonzales (2014) reportó que las vacas Jersey presentan valores superiores a la raza Holstein y al respectivo cruce entre estas razas. Esto no concuerda con los valores reportados por Vargas (2014) quien menciona valores de NUL de 20,3 y 18,7 para una dieta alta en proteína (16,5% PC) y una dieta basal (15,8% PC) respectivamente en animales Holstein.

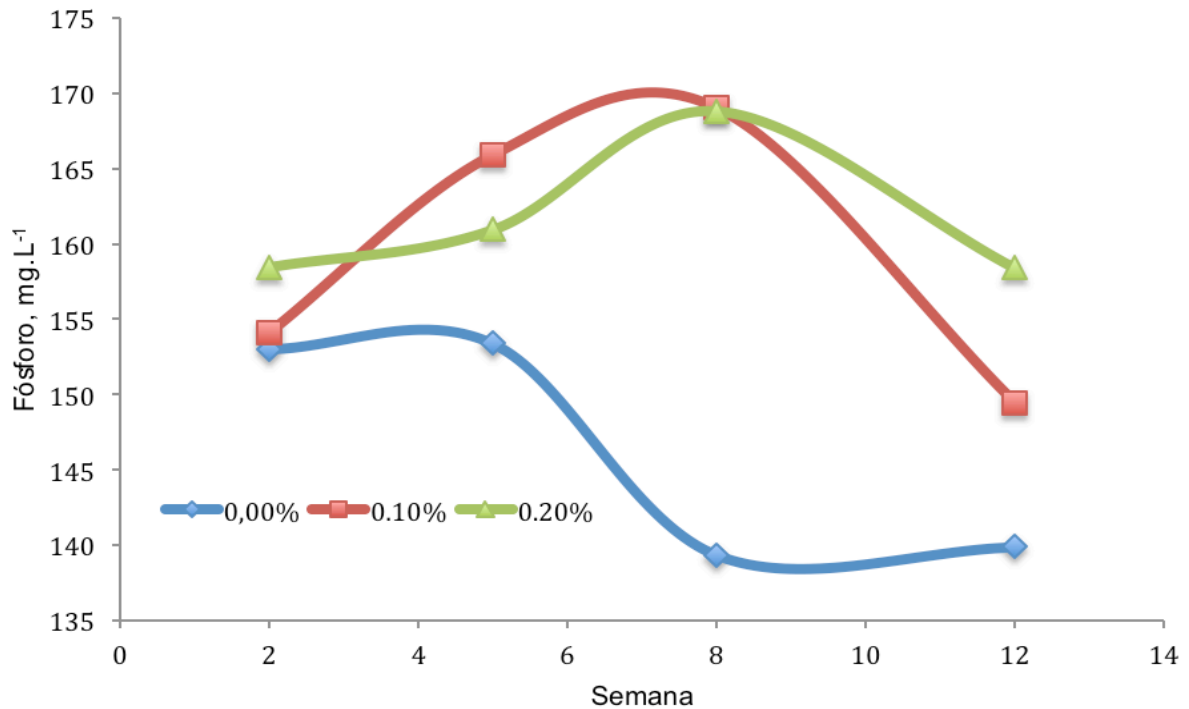


Figura 3. Concentración de magnesio en leche por grupo experimental.

Lee *et al.* (2014) reportaron una mejoría ($p < 0,05$) de la conversión alimenticia y la ganancia diaria en cabras de engorde utilizando 0,1% y 0,3% de la materia seca del alimento balanceado de suplementación de β -mananasa, sin ninguna diferencia entre dosis. Estos niveles de suplementación son similares a los utilizados en el presente estudio, sin embargo los resultados fueron asociados a la alta inclusión de harina de coquito y cascarilla de soya con altos niveles de mananos. El alto contenido de mananos en estos ingredientes aumenta la viscosidad del contenido intestinal, comprometiendo la absorción de nutrientes y agua en monogástricos (Chauhan *et al.* 2012; Saenphoom *et al.* 2013). En el presente estudio se desconoce el nivel de inclusión de los ingredientes con alto contenido de mananos que conformarán el alimento balanceado debido a que se utilizó una fórmula comercial.

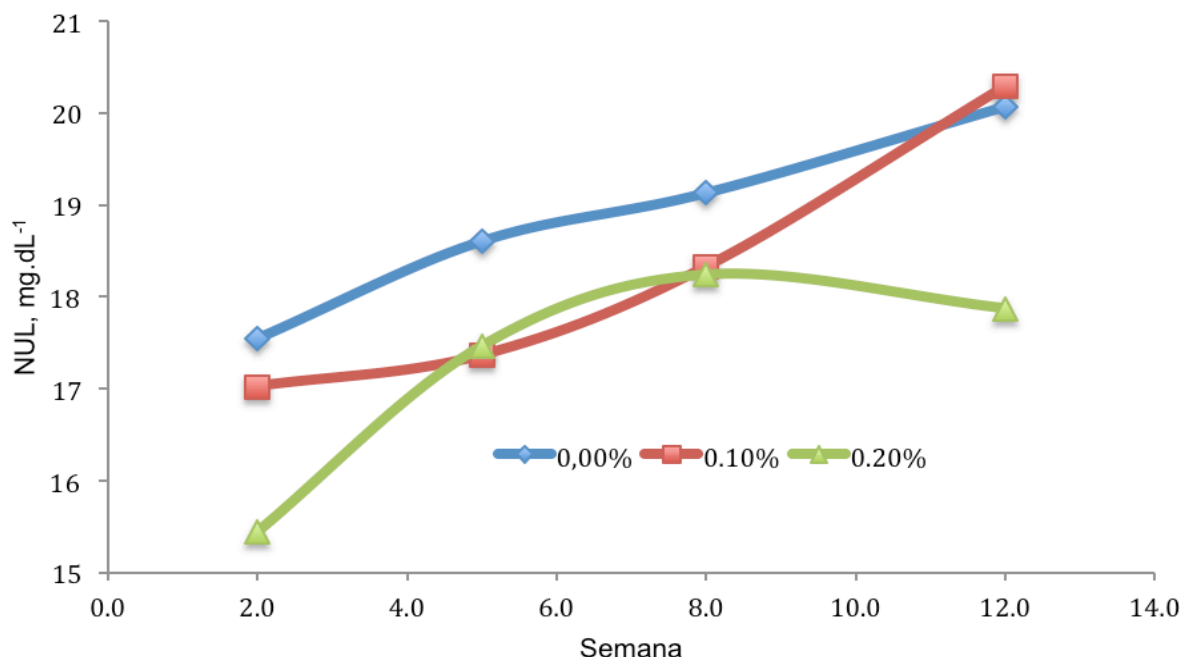


Figura 4. Concentración de NUL por grupo experimental.

En estudios realizados en monogástricos con β -mananasa no especifican la concentración de mananos en la ración total de la dieta (Cho y Kim, 2013; Li *et al.* 2010; Kim *et al.* 2013; Mok *et al.* 2013) al igual que en el estudio realizado por Lee *et al.* (2014) en rumiantes. Los autores se limitan a estipular los ingredientes utilizados altos en mananos, además de su nivel de inclusión en la dieta. Se utilizaron dietas basadas en harina de soya y harina de coquito como es el caso de Lee *et al.* (2014) el cual utilizó 14,4% de harina de maíz, 3% de harina de soya, 14,3% de cascarilla de soya y 18% de harina de coquito. Este último posee valores de mananos entre 28% y 40% de su materia seca lo cual es bastante alto (Sundu *et al.* 2006; Lee, 2014). Este ingrediente posee alto contenido de mananos por lo que incrementa el nivel total en la dieta, a diferencia de la dieta utilizada en el presente estudio. Es de gran dificultad la comparación de esta información con estudios previos ya que difieren del tipo de información que suministran. Es importante realizar este tipo análisis en futuros estudios para una mayor predicción e interpretación de resultados.

La dieta de los animales en el presente estudio contenía una inclusión de Vap-feed[®] entre 6 y 9 kg de MF/ animal /día, por lo que el contenido de mananos de este

suplemento es de gran importancia. Considerando el contenido de mananos de los suplementos comentados anteriormente, el contenido de mananos consumido/ animal/ día ronda entre 21,12 g y 29,46 g (0,12% y 0,15% de mananos de la ración total en MS respectivamente) en este experimento. Mientras que en la dieta utilizada por Lee *et al.* (2014), se calculó 41,19 g (7,19%) del carbohidrato por animal por día. Este dato no solo es mucho mayor que el del presente experimento, sino que es importante tomar en cuenta que la cabra posee un peso corporal menor al de una vaca por lo que los gramos de mananos/ kg PV va a ser mayor al de las vacas. La ingesta de mananos recomendada para que la enzima β -mananasa en vacas lecheras tenga un efecto debe ser mayor 40 gramos/día². Esto podría explicar el porque no se encontró ningún efecto de la enzima en este experimento, debido a que se estima que el nivel de mananos presente en la dieta de los animales en este estudio fue menor, por lo que la enzima no podría trabajar como se esperaría. Si este fuese el caso, no habría necesidad de suplementación de enzima en alimentos con Vap-feed[®], ya que la cantidad de sustrato específico (β -mananos) es muy bajo.

Al existir limitada literatura sobre el uso de β -mananasa en rumiantes o nula en ganado lechero bovino, no es posible comparar con información previa sobre su posible impacto en este sector productivo. Sin embargo el uso de enzimas en rumiantes, especialmente fibrolíticas, ha mostrado resultados inconsistentes a través de los años (Bedford y Partridge 2011). Varios artículos comentan posibles factores que pueden afectar significativamente el resultado de pruebas con este tipo de productos en rumiantes.

Las enzimas fibrolíticas tienen el potencial de incrementar la digestibilidad y la producción de leche en vacas lecheras debido a que su capacidad de digestión es inferior en comparación al potencial de digestibilidad de la dieta suministrada (Yang et al. 2000). La inclusión de estos productos no es de beneficio universal. Siempre es importante que al adicionar una enzima a una dieta, se realice de forma justificada, ya sea para un ingrediente o un sustrato específico presente en la dieta (Beauchemin et al. 1997). En el caso de esta tesis se tomó en cuenta los mananos presentes en

² Comunicado personal: Jung Jin Lee, 2015. CTCbio, Corea.

ciertos ingredientes del alimento balanceado para justificar el uso de la enzima. Como se mencionó anteriormente no fue posible cuantificar individualmente debido a que son concentrados comerciales con registro de propiedad intelectual, pero si se analizó el contenido de mananos de los alimentos balanceados por lo que se contó con el contenido de mananos en la ración total.

La actividad enzimática del producto como tal es de gran importancia, ya que esto 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 el efecto de inclusión de Xylanasas (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. La metodología utilizada en la presente tesis fue similar a la descrita por el autor, la enzima fue aplicada directamente al alimento balanceado por lo que se considera que fue el método indicado a utilizar.

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 observó 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.

Varios de los factores comentados anteriormente son desconocidos en cuanto a la enzima β -mananasa y el producto que se utilizó. Para poder comprender su posible impacto es necesario conocer estas características. Es necesario llevar a cabo más estudios sobre su comportamiento tanto a nivel ruminal como a nivel comercial.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este es el primer trabajo de investigación sobre el uso de la enzima β -Mananasa en ganado lechero. Bajo las condiciones descritas en esta tesis no se encontró ningún efecto significativo sobre la producción de leche y el contenido nutricional de la misma.

No se encontró algún efecto significativo sobre la concentración de Ca, P, Mg y nitrógeno ureico en leche (NUL). Sin embargo se obtuvieron valores mayores para la concentración de los elementos minerales en leche y un NUL menor para los animales que consumieron la enzima en comparación al grupo control.

En cuanto al conteo de células somáticas en leche, el resultado no fue significativo. Los datos obtenidos fueron muy variables a través del periodo experimental por lo que se requiere de un ambiente más controlado para poder analizar esta variable.

La concentración de β -Mananos en el alimento balanceado fue de 0,32% y el valor estimado de la ración total por animal por día fue de 21,12 y 29,49 gramos, por lo que se considera bajo. Puede que se requiera concentraciones mayores de este carbohidrato para que la enzima pueda actuar. Se recomienda la medición de β -mananos en la dieta previo a la inclusión de esta enzima en un dieta.

Se recomienda la utilización de lactaciones completas de las vacas para futuros estudios en ganado lechero. Se requiere de mayor estudio para determinar su posible uso en la alimentación de rumiantes.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists International. 19th edition. AOAC Int, Gaithersburg.
- BAURHOO B., FERKET P., ZHAO X. 2009. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial population, and carcass parameters of broilers. *Poultry Science*. 88(11): 2262-2272.
- BEAUCHEMIN K., JONES S., RODE L, SEWALT V. 1997. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 77:645-653.
- BEDFORD M., PARTRIDGE G. 2011. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2nd Edition. CAB International. UK.
- BOVERA F., LESTINGI A., IANNACCONE F., TATEO A., NIZZA A. 2015. Use of dietary mannanoligosaccharides during fattening period: Effects on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass traits, and meat quality. *J. Ani. Sci.* 90(11): 3858-3866.
- CASTILLO M., MARTIN M., TAYLOR J., PEREZ J. 2007. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: effects on microbiota and gut function. *J. Anim. Sci.* 86(1): 94-101.
- CHAUHAN P., PURI N., SHARMA P., GUPTA N. 2012. Mannanases: microbial sources, production, properties and potential biotechnological applications. *Apply Microbiology and Technology*. 93(5):1817-1830.
- CHO J., KIM I. 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.
- Disponibile en: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrient-management/certified-dairy/tools/interpret-mun-values-08134.pdf>

- FELIX A., GABELONI L., BRITO C., OLIVEIRA S., SILVA A., MAIORKA A. 2012. Effect of β -mannanase on the digestibility of diets with different protein sources in dogs determined by different methodologies. *J. Animal Sci.* 90: 3060-3067.
- FLEMMING J., FREITAS J., FONTOURA P., MONTANHINI R., ARRUDA J. 2004. Use of mannanoligosaccharides in broiler feeding. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 6(3): 159-161.
- FRANKLIN S., NEWMAN M., NEWMAN K., MEEK K. 2005. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *J. Dairy Sci.* 88: 766-775.
- 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.
- GONZALES 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. 39p.
- GUTIERREZ L. 2015. Análisis de la competitividad del sector lácteo costarricense: visión de la cámara nacional de productores de leche. Congreso lechero 2015. Costa Rica.
- HARGREAVES J., KERR J. 1978. Botanal: a comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. II. Computational package. Division of Tropical Crops and Pastures, Tropical Agronomy, CSIRO, Australia. Technical Memorandum N°. 9. 88 p.
- HRISTOV A., MCALLISTER T., CHENG K. 1998. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci.* 76:3146-3156.
- HSIAO H., ANDERSON D., DALET N. 2006. Research note, Levels of β -mannan in soybean meal. *Poultry Science.* 85: 1430-1432.
- HUANG J., CHEN C., HUANG C., HUANG T., WU T., CHENG Y., KO T., LIN C., LIU J., GUO R. 2014. Improving the specific activity of β -mannanase from

- Aspergillus niger BK01 by estucture-based rational design. *Biochimica et Biophysica. Acta* 1844: 663-669.
- ISHLER V. 2008. Interpretation of milk urea nitrogen values. Pennstate University. Cooperative Extention.
Disponible en: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrient-management/certified-dairy/tools/interpret-mun-values-08134.pdf>
- KIM J., INGALE S., LEE S., KIM K., KIM J., LEE J., CHAE B. 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.
- LEE J. 2014. Application of β -mannanase as a Feed Supplement in Ruminants . Thesis for getting Ph. Degree in animal nutrition. Chungnam National University. Korea. Pp 35.
- LEE J., SEO J., JUNG J., LEE J., LEE J., SEO S. 2014. Effects of β -mannanase supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and nitrogen utilization of Korean native goat (*Capra hircus coreanae*). *Livestock Science*.169: 83-87p.
- LI Y., CHEN X, CHEN Y., LI Z., CAO Y. 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.
- LIU S., CADOGAN D., PERON., TRUONG H., SELLE P. 2014. Effects of phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of starch and protein in broiler chickens offered maize, sorghum and wheat based diets. *Animal Feed Science and Technology*. 197: 164-175.
- MARTINEZ M., BOSTVIRONNOIS C., NARANJO V., PULSEN K. 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.
- MOK C., LEE J., KIM B. 2013. Effects of exogenous phytase and β -mannanase on ileal and total tract digestibility of energy and nutrient in palm kernel expellers-

- containing diets fed to growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 185:209-213.
- MORGAVI D., BEAUCHEMIN K., NSEREKO V., RODE L., MCALLISTER T., IWAASA A., WANG Y., YANG W. 2001. Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastrointestinal proteases. *J Anim. Sci.* 79(6): 1621-30.
- NABTE 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.
- 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. 29p.
- NOCHTA L., HALAS V., TOSSENBERGER J., BABINSZKY L. 2010. Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on the apparent ileal digestibility of nutrients, N-balance and growth performance of weaned piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94(6): 747-56.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. National Academy Press. Washington DC.
- PARIZA M., COOK M. 2010. Determining the safety of enzymes used in animal feed. *Regulatory toxicology and pharmacology*. 56:332-342.
- RAVINDRAN V. 2010. Aditivos en la alimentación animal: Presente y Futuro. XXVI Curso de especialización FEDNA. Madrid, España. 4-6 de nov.
- SAENPHOOM P., LIANG J., HO Y., LOH T., ROSFARIZAN M. 2013. Effects of enzyme treated palm kernel expeller on metabolizable energy, growth performance, villus height and digesta viscosity in broiler chickens. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26(4): 537-544.
- SAS Institute, 2004. SAS Institute. SAS User's Guide: Statistics. Version 8 ed. SAS Institute, Inc, Cary, NC.
- SELLE P., RAVINDRAN V. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal feed science and technology*. 135: 1-41.

- SIMS M., DAWSON K., NEWMAN K., SPRING P., HOOGE D. 2004. Effects of dietary manna oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poultry Science*. 83: 1148-1154.
- SPRING P., WENK C., DAWSON K., NEWMAN K. 2000. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentration of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broil chicks. *Poultry Science*. 79(2): 205-211.
- SU-QIN H., WEI-YUN Z. 2012. Gut bacterial and Lactobacilli communities of weaning piglets in response to mannan oligosaccharide and sugar beet pulp *in vitro* fermentation. *Journal of Integrative Agriculture*. 11(1): 122-133.
- SUNDU B., DINGLE J. 2003. Use of enzymes to improve the nutritional value of palm kernel meal and copra meal. Queensland Poultry Science Symposium. World's Poultry Science Association. Queensland, Australia.
- SUNDU B., KUMAR A., DINGLE J. 2006. Palm Kernel meal in broilers diets: effects on chicken performance and health. *Worlds Poultry Science Journal*. 62: 316-325.
- TREJOS A. 2015. Evaluación de la respuesta de la inclusión dietética de una β -mananasa y aceite acidulado de soya sobre el rendimiento zootécnico en ponedoras comerciales. 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. 73p
- VAN SOEST P.J., ROBERTSON J.B., LEWIS BA. 1991. Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci*. 74: 3583-3597.
- 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 p.
- WALLACE R., WALLACE S., MCKAIN N., NSEREKO V., HARTNELL F. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and

- grass silages by mixed ruminal microorganismos in vitro. J Animal Sci. 79 (7): 1905-1916.
- WEISS W.P. 2004. Fine-tuning energy calculations. Proceedings Tri-State Dairy Nutrition Conference. Purdue University, Michigan State University, Ohio State University, United States. 170p.
- WHITE L., NEWMAN G., CROMWELL G., LINDEMANN M. 2002. Brewwes dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. J. Anim. Sci. 80: 2619-2628.
- YANG W., BEAUCHEMIN K, RODE L. 2000. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cows diets. J. Dairy Sci. 83: 2512-2520.
- ZYL W., ROSE S., TROLLOPE K., GORGENS J. 2010. Fungal β -mannanases: Mannan hydrolysis, heterologous production and biotechnological applications. Process Biochemistry Journal. 45: 1203-1213.