

Efecto de la adición de β -mananasa sobre el consumo de alimento, producción, composición y contenido de células somáticas en leche de vacas Holstein-Friesian

Effect of β -mannanase addition on dry matter intake, yield, composition, and somatic cell count in milk of Holstein-Friesian cows

Rufino López-Ordaz¹

Florencia Sánchez-López¹

Carlos Sánchez del Real¹

Alejandro Lara-Bueno¹

Reyes López-Ordaz²

Agustín Ruíz-Flores¹

¹ Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia

² Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Producción Animal

Autor para correspondencia: Agustín Ruíz Flores, E-mail: aruizf@chapingo.mx; arf@correo.chapingo.mx

Resumen

Introducción: El objetivo del presente estudio, fue evaluar el efecto de la adición de β -mananasa sobre el consumo de materia seca (CMS) en los periodos pre y posparto, la producción (PL) y calidad de la leche, el contenido de nitrógeno ureico (NU), y el conteo de células somáticas (CCS) en leche de vacas Holstein-Friesian.

Método: En el estudio se utilizaron 30 vacas (Peso vivo (PV)= 781 ± 83 kg; de más de dos lactancias) de aproximadamente 260 d de gestación, las cuales se estratificaron por PV y PL en la lactancia

previa y se asignaron aleatoriamente a uno de dos tratamientos: 1) Dieta completa (Maíz-ensilado de Maíz), Control; y 2) Control+0.10% de β -mananasa (CTCZYME; Seoul, South Korea).

Resultados: El CMS preparto no fue diferente (14.44 ± 0.70 vs 15.66 ± 0.70 kg d⁻¹; p>0.05) entre tratamientos. En el posparto, de manera similar, no hubo diferencias (p>0.05) entre las vacas complementadas con las enzimas y las vacas Control. Por el contrario, PL fue mayor (42.66 ± 1.31 vs 38.24 ± 1.31 kg vaca⁻¹ d⁻¹; p<0.05) en las vacas complementadas comparadas con las Control. La adición de B-mananasa no alteró (p>0.05) ninguno de los componentes de la leche. Por el contrario, las vacas que se alimentaron con la enzima fueron más eficientes (p<0.05) en producción de leche comparadas con las Control. Paralelamente, el CCS fue menor ($152,600 \pm 294.1$ vs $112,6400 \pm 294.1$ células coliformes por mL; p<0.05) en las vacas que recibieron enzimas.

Discusión o Conclusión: La adición de β -mananasa a dietas con Maíz-ensilado de Maíz, incrementó la producción de leche y disminuyó el contenido de células somáticas en la leche. No influyó en el consumo de materia seca en los periodos pre- y posparto, la composición de la leche producida y en el contenido de nitrógeno ureico en leche.

Palabras clave: β -mananasa; vacas en transición; consumo de alimento; producción de leche; calidad de leche; células somáticas; materia seca; nitrógeno ureico; maíz; periodos de parto; enzimas; gestación; lactancia; tratamientos

Abstract

Introduction: The objective of the study was to evaluate the effect of exogenous β -mannanase addition on dry matter intake (DMI) in the pre- and postpartum periods, milk yield (MY) and milk composition, urea nitrogen content (NU) and somatic cell count (SCC) in Holstein-Friesian cows.

Method: Thirty cows were used in the study (body weight (BW)= 781 ± 83 kg; of more than two lactations) of approximately 260 d of gestation. The cows were stratified by BW and their previous MY and randomly assigned to one of two treatments: 1) Total mixed ration (corn-silage of corn), Control; and 2) Control+0.10% of β -mannanase (CTCZYME; Seoul, Korea).

Results: In the prepartum period, DMI was similar (14.44 ± 0.70 vs 15.66 ± 0.70 kg d⁻¹; p>0.05) between treatments. In the postpartum period, there were no differences (p>0.05) in DMI between the Control and the group with enzymes. On the contrary, MY was greater (42.66 ± 1.31 vs 38.24 ± 1.31 kg cow⁻¹ d⁻¹; p<0.05) in supplemented than in Control cows. The addition of β -mannanase into cow diets did not influence (p>0.05) milk composition; however, supplemented

cows showed greater ($p<0.05$) feed utilization efficiency than Control cows. The SCC was lower ($152,600\pm294.1$ vs $1,112,6400\pm294.1$ coliform cells per mL; $p<0.05$) in milk of cows that received β -mannanase.

Conclusion: Addition of β -mannanase in corn-corn silage diets increased milk yield and decreased the somatic cell content in milk, but it did not influence dry matter intake in both pre- and postpartum periods, nor did it influence the urea nitrogen content in milk, and postpartum milk composition.

Keywords: β -mannanase; transition cows; feed intake; milk yield; milk quality; somatic cells; dry material; urea nitrogen; corn; partum periods; enzymes; gestation; lactation; treatments

Recibido en: 17-01-2020

Aceptado en: 19-07-2020

Introducción

Los pastos y forrajes constituyen la base de la alimentación de las vacas lecheras en México. Sin embargo, el valor nutritivo de las especies forrajeras no siempre es el más apropiado para cubrir los requerimientos de los animales. Particularmente, durante la transición del periodo seco a la lactancia. Por ejemplo, la mayoría de las especies forrajeras tienen baja eficiencia de utilización, debido a que la digestibilidad aparente de la fibra es inferior al 65.0 % (Van Soest, 1994).

Con el devenir de los años, se han desarrollado varios métodos con fines de incrementar la digestibilidad y el valor energético de los forrajes, incluyendo tratamientos físicos, químicos y orgánicos (Owens *et al.*, 1997). Dentro de los orgánicos, se desarrolló el método de la adición de enzimas fibrolíticas exógenas a las dietas para animales como celulasas, endonucleasas, xilanases entre otros, (Adesogan *et al.*, 2014; Arriola *et al.*, 2017). En este contexto, la enzima exógena β -mananasa se caracteriza por reducir los polisacáridos de β -mananos a oligosacáridos de mananos

o manosa en los alimentos; los cuales, quedan disponibles para que las vacas puedan mejorar la eficiencia en el uso de energía (Moreira y Filho, 2008; Mok *et al.*, 2013). El mejoramiento en la eficiencia de la energía redundaría en el incremento en volumen de leche producida.

Por otro lado, se ha demostrado que β -mananasa promueve un incremento en la producción de células blancas como neutrófilos, leucocitos y macrófagos, que son agentes reductores de la cuenta de células somáticas excretadas en leche (Bortoluzzi *et al.*, 2019; Qiao *et al.*, 2018). La excreción de células somáticas es un indicador potencial de la presencia de mastitis. Dicho padecimiento se puede presentar en forma clínica o subclínica. Sin embargo, en ambas presentaciones produce efectos negativos en el volumen de leche producido.

Sin embargo, a pesar de la relevancia que tiene el incremento en leche producida por animal por día y la reducción de los daños ocasionados por la mastitis en los hatos lecheros, existe poca información relacionada con el uso de la β -mananasa en la alimentación de rumiantes, específicamente en vacas lecheras en el periodo de la transición del parto a la lactancia.

De acuerdo con algunos reportes, la adición β -mananasa a dietas completas mejoró el CMS en vacas (Arriola *et al.*, 2011), y cabras lecheras (Lee *et al.*, 2014), reduciendo enormemente el conteo de células somáticas. Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición β -mananasa en el consumo de materia seca en los periodos pre- y posparto, la producción y calidad de la leche, el contenido de nitrógeno ureico de la leche y el conteo de células somáticas en vacas Holstein-Friesian en el inicio de la lactancia.

Materiales y Métodos

Localización del lugar del experimento

El estudio se realizó en la lechería "18 de Julio", propiedad de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en el municipio de Tlahualilo, Durango ($25^{\circ} 54'0''$ N y $103^{\circ} 35'09''$ O). La lechería contaba

con 569 vacas Holstein-Friesian en ordeña. El manejo incluyó el uso de dietas completas, dos ordeños y sistemas técnico-mecánico para el sumistro de los alimentos. El sitio se encuentra a una altura de 1,137 metros sobre el nivel del mar, el clima es desértico, la temperatura media anual es 21.1°C con 239 mm de precipitación pluvial anual, distribuidos principalmente de julio a septiembre (García, 2005).

Manejo de las vacas

En el desarrollo del experimento, se siguieron las técnicas y procedimientos de la Guía de Cuidado y Uso de Animales Agrícolas e Investigación y Enseñanza (Federación de Sociedades de Ciencia Animal, FASS, 2010). Los animales utilizados en el presente estudio fueron 30 vacas adultas Holstein-Friesian gestantes, de aproximadamente 21 d previos su fecha probable de parto (peso corporal; PV=781±83 kg; condición corporal promedio de 3.5, escala: 1, muy delgada, 5, muy gorda; de más de dos lactancias (Edmonson *et al.*, 1989).

Las vacas se aleatorizaron y asignaron a uno de dos tratamientos (n=15): 1) Dieta completa (DC; Maíz-ensilado de Maíz), Control; y 2) DC+1.0 g kg⁻¹ de MS de β-mananasa (CTCZYME, patente 100477456-0000; CTC Bio Inc., Seoul, South Korea).

Manejo de la alimentación

La alimentación se manejó de acuerdo con los períodos estudiados. En el preparto, (aproximadamente, 21 d) los animales se alojaron en un corral con 30 alimentadores del tipo Calan Doors (Calan Doors, Northwood, NH). Las vacas recibieron diariamente una dieta balanceada acorde con las recomendaciones del NRC (NRC, 2001). Los ingredientes y la composición química

de las dietas experimentales se muestran en la **Tabla 1**. En cada dieta se usaron los mismos ingredientes durante el experimento. Las vacas tuvieron acceso a agua limpia y fresca *ad libitum*.

Tabla 1. Ingredientes y composición nutrimental de las dietas experimentales utilizadas complementadas con 0 y 0.10% de la enzima β -mananasa al preparto (21 días) y en el posparto (63 días) en vacas Holstein-Friesian en condiciones de confinamiento.

Table 1. Ingredients and nutrient composition of experimental diets supplemented with 0 and 0.10% of β -mannanase at precalving (21 days) and at postcalving (63 days) in Holstein-Friesian confined cows.

Ingrediente (g kg ⁻¹ de Materia seca)	Dieta preparto	Dieta posparto
Ensilado de Maíz	493.00	278.10
Heno de alfalfa	208.00	50.30
Pasta de soya	54.90	127.80
Salvado de trigo	68.60	185.30
Maíz rolado	165.60	237.02
Semilla de algodón	-----	72.20
Melaza	-----	22.10
Minerales Reto ^z	7.60	-----
Vitaminas Reto ^y	2.30	-----
Lactomil ^x	-----	9.0
Intermin minerales	-----	9.0
Buffer ^v	-----	9.0

^zMinerales (g/kg): P, 40.0; Ca, 120.0; Mg, 4.0; Mn, 6.0; Fe, 4.0; Zn, 5.0; S, 8.0; Co, 0.01; I, 0.08; Se, 0.03; Na, 200.0; Cl, 250.0.

^yVitamina A: 3,700,00 UI/Kg; Vitamina D3: 1,400,000 UI/Kg; Vitamina E: 17,500 UI/Kg.

^xLactomil: Grasa de sobrepaso.

^wIntermin Minerales: Vitamina A, 500 UI/g; Vitamina E, Vitamina D3, 1,500 UI/kg; Carbonato de Cobalto, 2.3%; Cloruro de Sodio, 2.5 g/kg; Fosfato Monodicálcico, 0.10 g/kg; Óxido de Magnesio, .67 g/kg; Óxido de Zinc, 0.33 g/kg;

Selenito de Sodio, 2.1 g/kg; Sulfato de Cobre, 0.10 g/kg; Sulfato de Hierro, 005 g/kg;

Sulfato de Manganeso, 0.005 g/kg; Yodo y/o minerales orgánicos, 0.03 g/kg.

^vBuffer: Óxido de magnesio, Sesquicarbonato de Sodio, Bentonita Sódica, Levadura viva (*Saccharomyces cerevisiae*), 50kg UFC t⁻¹; y Flavofosfolipol, 200g/t.

^uMétodo de referencia: NRS (Espectrofotómetro de Rayo Cercano a Infrarrojo).

^zMinerals (g/kg): P, 40.0; Ca, 120.0; Mg, 4.0; Mn, 6.0; Fe, 4.0; Zn, 5.0; S, 8.0; Co, 0.01; I, 0.08; Se, 0.03; Na, 200.0; Cl, 250.0.

^yVitamin A: 3,700,00 UI/Kg; **^{Vitamin D3:}** 1,400,000 UI/Kg; **^{Vitamin E:}** 17,500 UI/Kg.

^{xLactomil:} bypass fat.

^wIntermin Minerales: Vitamin A, 500 UI/g; Vitamin E, Vitamin D3, 1,500 UI/kg; Cobalt carbonate, 2.3%; Sodium chloride, 2.5 g/kg; Dicalcium phosphate, 0.10 g/kg; Magnesium oxide, .67 g/kg; Zinc oxide, 0.33 g/kg; Sodium selenite, 2.1 g/kg; Copper sulphate, 0.10 g/kg; Iron sulphate, 005 g/kg; Manganese sulphate, 0.005 g/kg; Iodine and/or organic minerals, 0.03 g/kg.

^vBuffer: Magnesium oxide, Sodium Sesquicarbonate, Sodium bentonite, Live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), 50kg UFC t⁻¹; and Flavophospholipol, 200g/t.

^uMethod of reference: NRS (Near red to infrared spectrophotometer).

Después del parto, la alimentación se ofreció tres veces al día en partes iguales (33.33% de la dieta diaria total) a las 6:00, 14:00 y 22:00 h, lo cual es una práctica común en la industria lechera en esta región de México (Ponce, 2013). Las vacas se alojaron en un corral para vacas frescas. El corral fue equipado con 30 comederos (tipo Calan Door) y varias fuentes de agua limpia. Previo al inicio del experimento, las vacas se entrenaron para disponer del alimento de los comederos. Durante el entrenamiento, las vacas eligieron un comedero, que se compone de una caja con dos entradas. La principal tiene una puerta batiéble, que abre exclusivamente a cada vaca. La segunda, es para poner el alimento. Dicho alimento se depositó en la caja y estuvo disponible hasta servir nuevamente el alimento. El alimento se sirvió en función del tratamiento. Las vacas poseen un dispositivo computarizado (un medallón) en el cuello, que al hacer contacto con la puerta de la caja, ésta se abre y permite el acceso de la vaca al alimento contenido en el comedero. De forma que las vacas disponen del alimento tanto como lo deseen durante todo el tiempo. El comedero es exclusivo para cada animal y puede contener aproximadamente 35.00 kg de alimento.

Durante el experimento, el alimento se preparó diariamente en un carro mezclador (DigiStar, EZ3600) y se almacenó en un espacio exclusivo, para posteriormente pesarse y ofrecerse a los animales de manera individual. Acto seguido, el alimento no consumido se pesó y se registró; este procedimiento se repitió cada vez que se ofreció alimento nuevo. Al final del día, el alimento rechazado se sumó y se sustrajo de la cantidad ofrecida para determinar el consumo de materia seca (CMS) individual por día. El CMS se estableció proporcionando 15.0% más que el requerimiento de alimento sugerido por NRC (NRC, 2001).

El alimento ofrecido (antes de ser servido) y el no consumido por cada animal se muestreó diariamente. Al final de la semana, las muestras se mezclaron para formar muestras compuestas semanales. Después de obtener las muestras, se almacenaron a -20°C. Posteriormente, se descongelaron, se pesaron y se secaron a 55.0-60.0°C en un horno de aire forzado por 48 h para determinar la MS de campo parcial; posteriormente, se molieron en un molino de Willey (A. H. Thomas, Philadelphia, PA), usando una criba de 1.00 mm.

La MS total, se determinó en una estufa a 100°C por 24 h utilizando los procedimientos descritos por la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (AOAC, 2006). Finalmente, las muestras se incineraron en una mufla a 500 °C para determinar los contenidos de materia orgánica (MO) y cenizas. Los contenidos de FDN y FDA se determinaron usando el método descrito por Goering y Van Soest (1970). Las muestras del alimento ofrecido y rechazado también se analizaron para determinar el contenido de proteína utilizando el método Kjeldahl (AOAC, 2006). Los contenidos de Ca se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica (Galleyan y May, 1996); mientras que la determinación de P fue por métodos colorimétricos y espectrofotometría de luz ultravioleta.

Cambios de peso y medidas corporales

Las vacas se ordeñaron a las 08:00 y 20:00 h utilizando una ordeñadora en paralelo (Westfalia Surge, Bonen, DE). La leche producida se pesó y se registró con un lactómetro Waikato MK V (Waikato, NZ). La producción de leche (PL) diaria fue la suma de los dos ordeños del día. La leche

corregida (LCG) al 4.0% de grasa se estimó utilizando la ecuación descrita por Gaines y Davidson (1923):

$$\text{LCG al 4.0\%} = (0.4) (\text{kg de leche producida}) + (15) (\text{kg de grasa producida})$$

Las muestras de leche se tomaron en viales de 120 mL semanalmente. Los viales contenían una pastilla de Bromopol (Bromopol BSM2 D & F Control, San Ramón, CA) como conservador. Los contenidos de grasa, proteína, lactosa, y sólidos totales, y nitrógeno úreico en la leche se analizaron utilizando un MilkoScan FT120TM (Multispec, Foss Feed Technology Corp., Eden Prairie, CA).

Análisis estadísticos

Los datos se analizaron con el procedimiento Mixed del programa estadístico SAS (SAS, 2013), bajo un diseño complementariamente al azar con medidas repetidas en el tiempo. Las variables estudiadas incluyeron los cambios de PV, CMS, PL, composición de leche, nitrógeno ureico y conteo de células somáticas.

El modelo inicial incluyó los efectos fijos de tratamiento, semana, la interacción tratamiento \times semana y vaca como efecto aleatorio. El modelo final, después de eliminar covariables e interacciones no significativas ($p>0.05$) dobles o triples, fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + VACA_i + TRATAMIENTO_j + SEMANA_k + TRATAMIENTO \times SEMANA_{jk} + E_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijkl} es la variable de respuesta; μ es la media general; $VACA_i$ es el efecto aleatorio de la i -ésima vaca; $TRATAMIENTO_j$ es el efecto fijo del j -ésimo tratamiento ($j=1, 2$); $SEMANA_k$ es el efecto fijo de la k -ésima semana ($j=1, 2, \dots, 9$); $TRATAMIENTO \times SEMANA_{jk}$ es el efecto fijo de la interacción del tratamiento \times semana; y E_{ijkl} es el término de error aleatorio.

El mismo modelo se utilizó para analizar las concentraciones de proteína, FDN, FDA y MS en las dietas. De los resultados obtenidos se presentan las medias de cuadrados mínimos y su error

estándar. Cuando el efecto de TRATAMIENTO fue significativo, se realizó una prueba de comparación de medias, mediante se la opción PDIFF del procedimiento mixed de SAS para determinar las diferencias entre tratamientos. Para cada variable de respuesta se utilizó la mejor estructura de covarianza, de acuerdo con los criterios de información de Akaike y Schwartz. La estructura de covarianza más adecuada para porcentaje de grasa, proteína, lactosa, y sólidos totales en leche fue simetría compuesta; para CMS fue la autorregresiva; mientras que para PL, eficiencia de alimentación, rendimiento de grasa y proteína lo fue simetría de compuestos heterogéneos.

Resultados y discusión

Consumo de materia seca

En la **Tabla 2**, se presentan los resultados del contenido nutrimental de los alimentos ofrecidos y rechazados de las dietas utilizadas durante ambos periodos pre- y posparto. Los análisis se hicieron por periodos. El periodo preparto fue de 21 días; mientras que el periodo posparto tuvo una duración de 63 días. Debido a que no hubo efectos de tratamiento ($p>0.05$), semana ($p>0.05$) o la interacción tratamiento por semana ($p>0.05$) en los periodos indicados, sólo se reportan las medias de cuadrados mínimos (**Tabla 2**).

Tabla 2. Composición nutrimental de las dietas experimentales utilizadas y complementadas con 0 y 0.10% de la enzima β -mananasa al preparto (21 días) y en el posparto (63 días) en vacas Holstein-Friesian en condiciones de confinamiento.

Table 2. Nutrient composition of experimental diets supplemented with 0 and 0,10% of β -mannanase at precalving (21 days) and at postcalving (63 days) in confined Holstein-Friesian cows.

Item (g kg^{-1} de Materia seca)	Dieta preparto (n=4)	EEM ¹	Dieta posparto (n=9)	EEM
--	----------------------	------------------	----------------------	-----

	Ofrecido	Rechazado		Ofrecido	Rechazado	
Materia seca	464.70	462.12	66.20	600.80	587.99	56.90
Energía neta de lactancia, Mcal kg ⁻¹ MS	1.70	1.67	0.12	1.80	1.69	0.23
Proteína	131.70	129.00	3.60	141.20	140.11	5.21
Proteína no degradable ²	47.40	46.00	11.26	56.00	55.23	12.00
Proteína degradable ²	84.30	82.12	11.00	85.20	84.12	9.36
Extracto etéreo	33.10	33.00	3.26	54.10	53.29	4.30
Fibra detergente neutro	465.00	460.00	66.90	413.40	411.78	12.14
Fibra detergente ácido	277.40	276.11	23.00	249.60	248.00	22.11
Carbohidratos no estructurales	285.01	275.34	12.00	323.40	322.11	12.15
Materia orgánica	928.00	926.34	32.12	917.00	914.15	24.12
Calcio	2.70	2.69	0.14	9.0	8.67	0.67
Fósforo	2.30	2.29	.027	3.50	3.66	0.50

¹EEM: Error estándar de la media.

²Método de referencia: NRS (Espectrofotómetro de Rojo Cercano a Infrarrojo).

¹EEM: Standard error of the mean.

²Method of reference: NRS (Near red to infrared spectrophotometer).

Frecuentemente, se considera que la alternativa apropiada para obtener los consumos y producciones de leche mayores es proveer a las vacas con alimento de valor nutritivo alto con acceso ilimitado durante el día. Sin embargo, el acceso ilimitado, sugiere ofrecer a las vacas más alimento del que puede consumir. Como el consumo *ad libitum* no es exactamente igual de un día para otro en una misma vaca o grupos de vacas, se requiere proveer alimento extra al final del día para asegurar que cada animal consuma el alimento requerido (NRC, 2001).

El manejo del rechazo es un balance entre proveer los necesarios para asegurar que cada vaca tiene acceso al alimento que ella desea. En el presente estudio, la no diferencia en la calidad de los alimentos ofrecidos comparados con los rechazados, sugiere que las vacas no tuvieron restricciones de consumo por la calidad de las dietas.

En la **Tabla 3**, se muestran los resultados de consumos de MS en los períodos pre y posparto, producción y contenido de grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos, sólidos totales y

nitrógeno ureico en la leche. Como se aprecia en los resultados, el consumo de MS no fue afectado ($p>0.05$) por la complementación con la enzima. Lo que quizás se deba a que la enzima mejoró la digestibilidad de MS, MO y los compuestos nitrogenados, incrementando la digestión de la fibra en el rumen. Sin embargo, los cambios no fueron suficientes para alterar la tasa de pasaje de las partículas ruminales (Zinn *et al.*, 1999), lo que inhibió el incremento en el consumo de alimento.

El incremento en el consumo de alimento de las vacas debido a la complementación con enzimas podría explicarse por el incremento en la tasa de pasaje de las partículas ruminales o por incremento en la digestión de la fibra, ninguno de los cuales se midieron en el presente experimento. Sin embargo, otros reportes de la literatura indicaron que los suplementos enzimáticos no aumentaron el CMS debido a que, aunque se incrementó la digestión de la fibra en el rumen (Feng *et al.*, 1996), dicho aumento no fue suficiente para alterar la tasa de pasaje de las partículas ruminales (Zinn *et al.*, 1999), lo que inhibió la expresión del consumo de alimento. Una de las bases de este postulado es el mejoramiento en la eficiencia alimenticia de las dietas.

Tabla 3. Medias de cuadrados mínimos de consumo de materia seca, composición, producción y nitrógeno ureico de la leche de vacas Holstein-Friesian en confinamiento que consumen 0 y 0.10% de la enzima β -mananasa en la dieta durante el preparto (21 días) y posparto (63 días).

Table 3. Least square means for dry matter intake, yield, composition, and ureic nitrogen in milk of confined Holstein-Friesian supplemented with 0 and 0.10% of β -mannanase in diet at precalving (21 days) and at postcalving (63 days).

Item	Tratamientos		EEM		P	
	Control	β -mananasa	Tratamiento (T)		Tiempo	T \times Tiempo
Consumo de materia seca, kg día⁻¹						
Preparto	14.44	15.66	0.70	0.248	0.36	0.45
Posparto	22.28	22.91	0.59	0.484	0.31	0.23
Producción, kg día⁻¹						
Leche	38.24a	42.66b	1.31	0.024	0.28	0.33
Leche corregida al 4.0% de grasa, kg día ⁻¹	34.31	35.30	1.10	0.23	0.12	0.24
Grasa, kg día ⁻¹	1.25	1.27	0.05	0.813	0.22	0.45

Proteína, kg día-1	1.20	1.33	0.07	0.84	0.24	0.46
Lactosa, kg día-1	1.84	2.11	0.16	0.09	0.21	0.40
Sólidos no grasos kg día-1	3.33	3.78	0.07	0.20	0.43	0.23
Eficiencia (kg de leche: kg de alimento)	1.71a	1.86b	0.82	0.05	0.27	0.29
Composición de la leche						
Grasa, %	3.34	3.03	0.14	0.130	0.34	0.33
Proteína, %	3.14	3.13	0.07	0.865	0.43	0.29
Lactosa, %	4.83	4.96	0.05	0.091	0.27	0.29
Sólidos no grasos, %	8.73	8.86	0.07	0.262	0.40	0.34
Sólidos totales, %	12.09	11.89	0.17	0.440	0.27	0.29
N ureíco, mg dL-1	6.35	6.90	0.47	0.444	0.23	0.34

^{a,b} Medias dentro de una hilera con literal distinta son diferentes estadísticamente (P < 0.05).

^{a,b} Means in the same row with different letter are statistically different (P < 0.05).

Resultados similares fueron reportados por Roque *et al.* (2019), quienes incluyeron 0.10% de β -mananasa en dietas con base en Maíz-ensilado de Maíz, misma que fue suministrada por 182 d de lactancia. En el mismo contexto, Seo *et al.* (2016), observaron que la adición de 0.10% de la enzima a dietas de forraje: concentrados (25:75%) no influyó en el CMS de vaquillas Hanwoo en crecimiento. En los estudios de Roque *et al.* (2019) y Seo *et al.* (2016) no se observó diferencias en el CMS, sin embargo, si se observó el efecto de la enzima en la eficiencia de conversión del alimento.

Por el contrario, otros han autores como Tewoldebrhan *et al.* (2017) observaron reducción en el CMS por la adición de β -mananasa en vacas Holstein-Friesian de lactancia avanzada, donde encontraron que la complementación de las dietas con 0.10% de β -mananasa redujo el CMS en 1.8 kg vaca⁻¹ d⁻¹ en comparación con el de las vacas Control. La reducción en el consumo se atribuyó a una reducción en la digestibilidad aparente en el tracto total de MS, MO y proteína.

La diferencia entre el estudio de Tewoldebrhan *et al.* (2017) y el presente, fue que en el primero las vacas estuvieron en la segunda fase de la lactancia (después del pico de producción, 116±19 d en leche), y en el presente estudio, estuvieron en una etapa más temprana (17±6 d en leche),

cuando el metabolismo del animal presenta demandas mayores por nutrientes. Dicha demanda, posiblemente, proviene de un metabolismo más acelerado, debido a que la primera etapa de la lactancia, la vaca moviliza una mayor cantidad de sustratos para mantener la PL, y quizás esto permite un incremento en la eficiencia de utilización (Mendoza *et al.*, 2014).

Producción de leche

Las vacas adicionadas con la enzima produjeron 10.36 % ($p<0.05$) más leche que las Control (**Tabla 2**). Este incremento, posiblemente, se deba a que la β -mananasa influyó en la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica y los compuestos nitrogenados de las dietas. Este hecho, quizás mejoró la digestión de la fibra, sin promover cambios en la tasa de pasaje de las partículas del rumen, por lo que no hubo cambios en el consumo de MS. Ninguno de los aspectos antes mencionados fueron medidos en el presente estudio. Sin embargo, en varios reportes de literatura (Yang *et al.*, 1999; Rode *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2000) se observó que el consumo de MS no incrementó por efecto de la enzima suplementada, aunque la digestión de la fibra incrementó sin cambiar la tasa de pasaje de las partículas en el rumen (Rode *et al.*, 1999), por lo que no se observó cambio alguno en el consumo de materia seca.

Beauchemin *et al.* (1995) y Rode *et al.* (1999) indicaron que la adición de enzimas fibrolíticas a las dietas de rumiantes promueven incrementos en la digestibilidad de la MS y NDF sin afectar el consumo de alimento. El incremento en la digestibilidad de los nutrientes se relaciona con el modo de acción de la enzima cuando se suministra al alimento. La enzima altera la estructura del alimento haciéndolo más susceptible a la degradación (Dean *et al.*, 2013).

Los resultados obtenidos en el presente estudio son contradictorios a los observados por otros, donde frecuentemente, la acción de β -mananasa no influyó el volumen de leche producido. Al respecto, Roque *et al.* (2019) no observaron incrementos en PL en vacas que recibieron 0.10% de β -mananasa en la dieta comparadas con el Control. Las dietas fueron similares a las utilizadas en el presente estudio. Estos resultados también concuerdan con los observados con enzimas

fibrolíticas exógenas como endonucleasas y xilanases en vacas lecheras (Arriola *et al.*, 2011; Peters *et al.*, 2015).

Tewoldebrhan *et al.* (2017) observaron que la complementación con 0.10% de β -mananasa en la dieta, no influyó el volumen de leche producido (34.4 vs 34.0 kg d⁻¹) en comparación con el Control. La diferencia entre el estudio de Tewoldebrhan *et al.* (2017) y el presente, fue que en el primero las vacas estuvieron en la segunda fase de la lactancia (después del pico de producción, 116 \pm 19 d en leche), y en el presente estudio estaban en una etapa más temprana (17 \pm 6 d en leche), cuando el metabolismo del animal presenta una demanda mayor por nutrientes.

De acuerdo con Kong *et al.* (2011), el efecto positivo de la adición de β -mananasa, puede deberse a una mayor cantidad de energía disponible en la dieta, como producto de la degradación de β -mananos por la acción de la enzima. La cual anticipa un mejoramiento en el metabolismo energético con un incremento en la digestión de la fibra (Wu *et al.*, 2005). Sin embargo, Peters *et al.* (2015) utilizaron enzimas exógenas fibrolíticas como celulasas y xilanases, y concluyeron que dichas enzimas no modificaron el volumen de leche producida.

Un resultado único del presente estudio es el incremento en PL por la complementación con β -mananasa, lo que hasta ahora no se había reportado en vacas lecheras al inicio de la lactancia. Como se indicó anteriormente, la cantidad extra de leche se explicó por la presencia de la enzima que, posiblemente, mejoró la digestión de la fibra e incrementó la fermentación ruminal. Sin embargo, el uso de la enzima dependerá del nivel de producción, edad de las vacas y costo local de la enzima con relación al incremento en el volumen de leche.

Componentes de leche

La complementación con β -mananasa no influyó ($p>0.05$) en la composición y producción de componentes de la leche (**Tabla 2**). Esto quizás se debe a que las dietas se formularon para cubrir las necesidades de mantenimiento y producción de las vacas en forma apropiada (NRC, 2001). Recientemente, Arriola *et al.* (2017) reportó en un metaanálisis de 15 estudios, donde se evaluó la complementación con enzimas fibrolíticas y sus efectos en el comportamiento de las vacas

lecheras. El reporte indica que no hubo efecto en la composición de la leche. Los ejes principales de esta falta de efectos se relacionaron con el estado energético y de lactancia.

De acuerdo con el mismo estudio publicado por Arriola *et al.* (2017), 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).

El poco impacto en la concentración y producción de componentes de leche también fue observado por Zilio *et al.* (2019), en vacas Holstein-Friesian que recibieron enzimas fibrolíticas, amilolíticas y una combinación de ambas al inicio de la lactancia. Las enzimas exógenas no afectaron la producción y composición de la leche, sugiriendo una pérdida de evidencia de que las enzimas amilolíticas y fibrolíticas pueden afectar la digestibilidad de nutrientes, fermentación ruminal, y el comportamiento de los animales en lactancia avanzada.

Los efectos de las enzimas en la composición de la leche son poco perceptibles y no logran alcanzar significancia estadística. Por ejemplo, Romero *et al.* (2016) reportaron valores de concentración de grasa (3.60 vs 3.62%; para control vs xilananas, respectivamente) de leche en vacas Holstein-Friesian al inicio de la lactancia.

Otro caso fue observado por Zilio *et al.* (2019), quienes observaron que la adición de xilananas no impactó ni el porcentaje (3.05 vs 3.06%; control vs xilananas), ni la producción de proteína de vacas Holstein-Friesian durante la parte media de la lactancia.

Eficiencia de utilización del alimento

En el presente estudio, la complementación con enzimas mejoró ($p<0.05$) 8.0% la eficiencia de conversión del alimento a leche comparado con el Control (**Tabla 2**), lo que quizás se explique por una movilización de lípidos provenientes de las reservas corporales que son susceptibles de uso después del parto. Este hecho se relaciona con el incremento en los requerimientos de los animales debido al inicio de la lactancia.

Aunque la movilización de lípidos no se evaluó en el presente estudio, esta respuesta se ha observado en diversos estudios. Lee *et al.* (2014) observaron que cabras en crecimiento que recibieron dietas forraje: concentrado (25:75%) más 0.10% de β -mananasa, mejoraron en 29.5% tanto la ganancia diaria de peso como la eficiencia de utilización del alimento. Ambos aspectos se explicaron: primero, por el mejoramiento en el consumo de alimento (11.3 vs 11.2 g dia $^{-1}$) y, segundo, la excreción de N más baja (5.6 vs 4.7 mg dL $^{-1}$) en las cabras complementadas.

El mejoramiento en la eficiencia de conversión y la salud de los animales tiene beneficios ambientales y económicos en las operaciones lecheras. Las β -mananasas pueden mejorar la digestión y la utilización de los nutrientes liberando mananos y xilanos. Kebreab *et al.* (2016) indicaron que la adición de 0.10% de β -mananasas a la dieta mejoró la eficiencia de conversión del N a proteína de leche, la ganancia de peso y la salud de la ubre de vacas en la lactancia sin afectar las excreciones de metano y el N fecal.

En el presente estudio, el mejoramiento en la eficiencia también puede asociarse con la posibilidad de que el consumo de MS y la digestibilidad de la proteína de la dieta, cubrieron los requerimientos de N de los animales. Esto posiblemente, evitó gastos energéticos por la excreción del exceso de N. En el presente estudio, el contenido de N ureico en leche fue similar en ambos grupos experimentales, lo que sugiere que el N contenido en la dieta fue utilizado eficientemente por las vacas tratadas con enzimas.

Nitrógeno ureico en la leche

El nitrógeno ureico en la leche es un metabolito que permite predecir la excreción y la eficiencia de utilización del nitrógeno en los animales. En el presente estudio, la complementación con 1.0 g día $^{-1}$ de β -mananasa en la dieta no influyó ($p>0.05$) la concentración de N ureico en la leche (**Tabla 2**). Lo que quizás se explique por los contenidos y usos de los compuestos nitrogenados que fueron proporcionados por las dietas.

Resultados similares a los del presente estudio fueron observados por otros investigadores. Zilio *et al.* (2019) indicaron que la complementación con 8.0 g d $^{-1}$ de enzimas amilolíticas, y 12.0

g d^{-1} de fibrolíticas incluidas en la dieta no influyeron en la excreción del N ureico en leche. Dicha conclusión se basó en que las enzimas no modificaron la digestibilidad, la fermentación ruminal y la producción de leche. En el presente estudio, la concentración de la enzima fue de 1.0 g d^{-1} . Si se asocia con el consumo diario, se tendría 22.9 kg de MS multiplicado por 1.0 g d^{-1} de β -mananasa, daría un resultado de 22.9 g d^{-1} de la enzima. Este valor sería similar a los 20 g d^{-1} suministrados en el estudio de Zilio *et al.* (2019).

En adición, la respuesta de los animales al uso efectivo del N de la dieta tiene varias aristas. Como se demostró anteriormente, el manejo efectivo del N depende mucho de la enzima. Sin embargo, también depende de otros aspectos como la calidad de los ingredientes, su digestibilidad y su habilidad para transformarse en ácidos grasos volátiles en el rumen y la producción de proteína microbiana. Cualquier cantidad de energía y proteína extra, debido a la condición de la vaca, se priorizará para formación de leche.

La concentración de urea en leche puede utilizarse como una herramienta para determinar si la dieta está provocando fallas en la producción o infertilidad del hato. La urea también puede ser un indicador del funcionamiento ruminal. Los niveles excesivos ($>18 \text{ mg dL}^{-1}$) serían señales de alerta relacionados con desbalances de proteínas, niveles reducidos de carbohidratos o ambiente ruminal pobre. Sin embargo, como puede observarse en ambos grupos de animales, las concentraciones estuvieron alrededor de 7.0 mg dL^{-1} . Lo que sugeriría que el metabolismo fue apropiado a las condiciones actuales de producción de leche y salud de los animales.

Conteo de células somáticas

La mayoría de las células en el CCS son células blancas como macrófagos, linfocitos, y neutrófilos, los que pelean contra infecciones de la ubre y reparan los tejidos dañados (Bradley y Green, 2005). En forma práctica, el CCS se toma como un indicador de las inflamaciones de la ubre, que se conoce como mastitis. En el presente estudio, la complementación con 1.0 g de MS $\text{kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de β -mananasa disminuyó ($p<0.05$) 86% el CCS con respecto a las Control (**Fig. 1**). Esto quizás se deba a la liberación de oligosacáridos de manosa incrementando la energía disponible en el animal. Esto

posiblemente, promueva la activación del sistema inmunológico en la glándula mamaria, resultando en una producción mayor de células blancas.

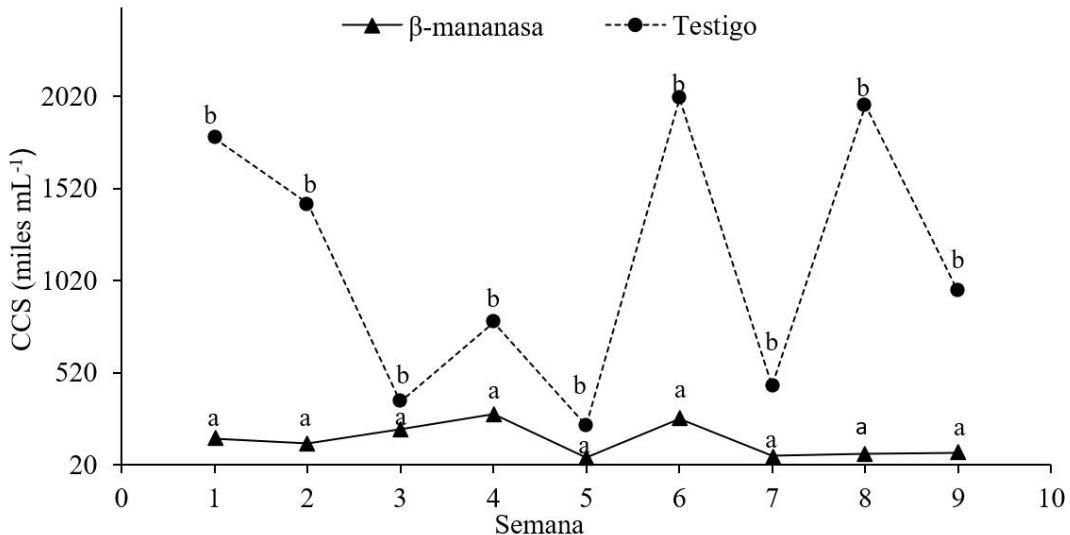


Fig. 1. Concentración de células somáticas en leche de vacas alimentadas con dietas completas Maíz-ensilado de Maíz complementadas con 0.10% de β -mananasa o no (Testigo) durante los primeros 63 días de lactancia de vacas Holstein-Friesian en condiciones de confinamiento ($p<0.05$).

Fig. 1. Concentration of somatic cells in milk of cows fed complete corn-corn silage diets supplemented with 0 (control) or 0.10% of β -mannanase during the first 63 days of lactation of confined Holstein-Friesian cows ($p<0.05$).

Aunque en el presente experimento no se estudió el metabolismo de β -mananos, algunos reportes de literatura indican que la liberación de mananos responde con incrementos en el nivel energético del animal, logrado por la hidrólisis de los oligosacáridos de mananos. Tewoldebrhan *et al.* (2017) indicaron que las vacas que consumieron dietas con enzimas mostraron CCS menores con respecto al Control (59 vs 72 miles de células mL^{-1}). Lo que se atribuyó a un incremento en la producción de células blancas como neutrófilos, linfocitos y macrófagos (Durr *et al.*, 2008), propiciado por el consumo de β -mananasa en una proporción similar a la usada en el presente estudio.

En otro estudio, Roque *et al.* (2019) indicaron que la adición de β -mananasa a una dieta completa produjo niveles inferiores de haptoglobina durante lactancia en las vacas complementadas con la enzima. La haptoglobina es una proteína transportadora de hemoglobina, que elimina la formación de coágulos sanguíneos, mediante la unión de fragmentos de hemoglobina. Los fragmentos se metabolizan en las células hepáticas, y esto previene la formación de coágulos, lo que sugiere que la enzima se relaciona con efectos antiinflamatorios de la ubre.

El incremento en la producción de células blancas por la adición de la enzima se demostró en aves y porcinos. En aves, Bortoluzzi *et al.* (2019) evaluaron la diversidad y la composición de la microbiota ileal y cecal en pollos de engorda contaminados con *Coccidia*. La microbiota cecal, fue dominada por familias como *Ruminococcae* y *Bacteroides* del orden de los *Clostridiales* en los animales testigo en los primeros 21 d. Por el contrario, la adición de β -mananasa moduló la microbiota incrementando las poblaciones benéficas como *Lactobacillus*, *Akkermansia*. Paralelamente, promovió la reducción de *Bacteroides* que se relaciona con eficiencias de utilización del alimento bajas.

En porcinos, Qiao *et al.* (2018) indicaron que animales Landrace×Yorkshire alimentados con 200 mg kg⁻¹ de β -mananasa en la dieta, incrementaron los niveles de albumina, creatinina y Ca, y decrecieron el N ureico en la sangre mesentérica. Por el contrario, restablecieron los niveles de albumina, aminotransferasas y de aminotransferasas glutámico oxaloacético en las venas portal y carótidas. Aparentemente, β -mananasa parece interactuar en el metabolismo del N y minerales en la reparación de los tejidos dañados en cerditos en crecimiento.

Las evidencias anteriores, sugieren, que posiblemente, la reducción observada en CCS se relaciona con el sistema inmune de la vaca que responde con la inflamación de la glándula mamaria. Esta inflamación es como respuesta a la liberación de mananos oligosacáridos liberados por la acción de β -mananasa. El párrafo anterior, permite suponer que vacas con CCS bajos deberían gastar menos energía en funciones inmune comparados con aquellas con CCS altos como fue el caso del presente estudio.

Bradley y Green, (2005), indicaron que cuando el CCS es menor que 100,000 células mL⁻¹ se considera normal y refleja la salud de la glándula mamaria. Por el contrario, CCS mayores que 200,000 células mL⁻¹ se relacionaron con mastitis subclínica (Bradley y Green, 2005). Sin embargo, Nyman *et al.* (2016) demostraron que vacas con CCS de 74,000 células mL⁻¹ pueden presentar infecciones mamarias. Lo que indicaría que las vacas del presente estudio debieran presentar

algunos signos asociados con mastitis subclínica. Sin embargo, si los hubo, fueron imperceptibles durante el estudio. Lo que indicaría que, independientemente, de los niveles de células somáticas encontradas en el presente estudio, no hubo efectos directos en el rendimiento lechero de los animales.

A pesar de las limitaciones del presente estudio, los resultados observados sugieren que la adición de pequeñas cantidades de β -mananasa (1.0 g por kg de MS por día), a dietas completas de Maíz-ensilado de Maíz, puede ser una alternativa práctica para que los productores puedan mejorar la calidad de la materia seca de las dietas, producción de leche y reducción de mastitis. Los resultados tienen inferencia en vacas en confinamiento con el uso de dietas completas, que representan las condiciones propias del estudio. Dichas inferencias se pueden hacer extensivas para lecherías con dietas incompletas o de ingredientes por separado. También pueden ser viables para vacas que se manejan en condiciones de pastoreo.

Conclusiones

La adición de 1.0 g por kg de β -mananasa a dietas de Maíz-ensilado de Maíz, incrementó la producción de leche por kilogramo de materia seca y disminuyó el contenido de células somáticas de la leche de vacas Holstein-Friesian en el inicio de la lactancia. Por el contrario, no influyó en el consumo de materia seca en los períodos pre- y posparto, el contenido de nitrógeno ureico y la composición de la leche.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo para realizar estudios de Maestría en Ciencias del segundo autor.

Referencias

Adesogan, A. T., Ma, Z. X., Romero, J. J., and Arriola, K. G. (2014). Ruminant nutrition symposium: Improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. *Journal of Animal Science*, 92, 1317-1330. DOI: 10.2527/jas.2013-7273.

AOAC. (2006). *Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis*. 18th. (Ed.). Association of Official Analytical Chemists Press. Gaithersburg, MD. AOAC International.

Arriola, K. G., Oliveira, A. S., Ma, X. Z., Lean, I. J., Giurcanu, M. C., and Adesogan, A. T. (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>.

Arriola, K. G., Kim, S. C., Staples, C. R., and Adesogan, A. J. (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: <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3424>.

Beauchemin, K. A., and Holtshausen, L. (2010). Developments in enzyme usage in ruminants. Pages 206-230 in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2nd ed. CAB Int., Wallingford, UK.

Beauchemin, K. A., Rode, L. M., and Sewalt V. J. (1995). Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. *Canadian Journal of Animal Science*, 75:641–644. DOI: <https://doi.org/10.4141/cjas95-096>.

Bradley, A., and Green, M. (2005). Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. *In Practice*, 27(6), 310-315. DOI:10.1136/inpract.27.6.310.

Bortoluzzi, C., Scapini, L. B., Ribeiro, M. V., Pivetta, M. R., Buzim, R., and Fernandes, J. I. M. (2019). Effects of β -mannanase supplementation on the intestinal microbiota composition of broiler chickens challenged with a coccidiosis vaccine. *Livestock Science*, 228, 187-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.001>.

Dean, D. B., Staples, C. R., Littell, R. C., Kim, S., and Adesogan, A. T. (2013). Effect of method of adding a fibrolytic enzyme to dairy cow diets on feed intake digestibility, milk production, ruminal fermentation, and blood metabolites. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 13, 337–353.

Durr, J. W., Cue, R. I., Monardes, H. G., Moro-Mendez, J., and Wade, K. M. (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.

Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. and Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 68–78. DOI: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0).

FASS. (2010). *Guide care and use of agricultural animals in research and technology*. 3rd Ed. Federation Animal Society. Champaign, IL, USA.

Feng, P., Hunt, C. W., Pritchard, G. T., and Julien, W. E. (1996). Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *Journal Animal Science*, 74, 1349-1357. DOI: 10.2527/1996.7461349x.

Gaines, W. L., and Davidson, F. A. (1923). *Relation between percentage fat content and yield of milk*. Agricultural Experiment Station, Bulletin 245. University of Illinois. USA. p. 594.

Galyean, M., and May, T. (1996). *Laboratory procedures in animal nutrition research*. (15th Ed.). New Mexico State University. Las Cruces, NM.

García, E. (2005). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Instituto de Geografía. UNAM. México. 5ta. Edición p. 16-20. http://www.igeograf.unam.mx/sigg/utilidades/docs/pdfs/publicaciones/geo_siglo21/serie_lib/modific_al_sis.pdf. Accesado en marzo de 2018.

Goering, H. K., and Van Soest, P. J. (1970). *Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)* Agricultural handbook no. 379. ARS-USDA, Washington, DC, USA. ARS-USDA Press Inc.

Kebreab, E., Tewoldebrhan, T., Appuhamy, R., Niu, M., Seo, S., Jeong, S., Lee, J. J. (2016). Supplementation of β -mannanase (ctczyme) to lactating dairy cattle diets improves feed conversion efficiency and somatic cell count. *Journal Animal Science*, 94(5), 658–659. DOI: <https://doi.org/10.2527/jam2016-1362>.

Kong, C., Lee, J. H., and Adeola, O. (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. K., Lee, J., Lee, J. H., and 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, 83-87. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.08.018>.

Mendoza, G. D., Loera-Corral, O., Plata-Pérez, F. X., Hernández-García, P. A., and Ramírez-Mella, M. (2014). Considerations on the use of exogenous fibrolytic enzymes to improve forage utilization. *The Scientific World Journal*, (247437), 1-9- DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/247437>.

Mok, C. H., Lee, J. H., and Kim, B. G. (2013). Effects of exogenous phytase and p-mannanase on ileal and total tract digestibility of energy and nutrient in palm kernel expeller-containing diets fed to growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 186(3-4), 209-213, DOI:10.1016/j.anifeedsci.2013.10.008.

Moreira, L. R. S., and Filho, E. X. F. (2008). An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(2), 165-178, DOI:10.1007/s00253-008-1423-4.

Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC). (2001). 7th ed. National Academies Press, Washington, DC.

Nyman, A. K., Emanuelson, U., and Waller, K. P. (2016). Diagnostic test performance of somatic cell count, lactate dehydrogenase, and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase for detecting dairy cows with intramammary infection. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1440-1448, DOI:10.3168/jds.2015-9808.

Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., Gill, D. R. (1997). The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 75(3), 868-879. DOI: 10.2527/1997.753868x.

Peters, A., Meyer, U., and Dänicke, S. (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: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2015.09.001>.

Ponce, C. I. (2013). *Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* en la producción y calidad de la leche de vacas Holstein-Friesian en condiciones de estrés calórico*. Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera. Posgrado en Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo. 58 p.

Overton, R. (2003). *Managing the metabolism of the transition cows*. Proceedings of the 6th Western dairy Science Management Conference. March 12-14, 2003. Reno, NV.

Qiao, Y., Zhu, X., Zhai, L., Payne, R., and Li, T. (2018). Dietary B-mannanase supplementation improved growth and health of nursery pigs fed high soybean meal diet. *Journal of Animal Science*, 96, suppl., 3, 304-305.

Rode, L. M., Yang, W. Z., and Beauchemin, K. A. (1999). Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 82(10), 2121–2126. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75455-X.

Romero, J. J., Macias, E. G., Ma, Z. X., Martins, R. M., Staples, C. R., Beauchemin, K. A., and Adesogan, A. T. (2016). Improving the performance of dairy cattle with a xylanase-rich exogenous enzyme preparation. *Journal of Dairy Science*, 99, 3486-3496. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10082>.

Roque, B. M., Reyes, G. C., Tewoldebrhan, T. A., Apphuamy, J. A. D. R.N., Lee, J.J., Seo, S., and Kebreab, E. (2019). Exogenous β -mannanase supplementation improved immunological and metabolic responses in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102, 4198-4204. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15568>.

SAS Institute Inc. (2013). SAS/STAT 9.3 User's Guide. SAS Institute. Cary, N. C. USA. 5180 p.

Seo, J., Park, J., Lee, J., Lee, J. H., Lee, J. J., Kam, D. K., and Seo, S. (2016). Enhancement of daily gain and feed efficiency of growing heifers by dietary supplementation of β -mannanase in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*). *Livestock Science*, 188, 21-24. DOI: 10.1016/j.livsci.2016.04.00.

Tewoldebrhan, T. A., Appuhamy, J., Lee, J. J., Niu, M., Seo, S., Jeong, S., and Kebreab, E. (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., Miranda-Romero, L. A., Ruíz-Flores, A., Medina-Cuéllar, S. E., Ramírez-Valverde, R., and Tirado-Estrada, G. (2018). Meta-analysis: Effects of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant diets. *Journal Apply of Animal Research*, 46, 771-783. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1399135>.

Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca. 476 p.

Wu, G., Bryant, M. M., Voitle, R. A., and Roland Sr, D. A. (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. Z., K. A. Beauchemin, and Rode, L. M. (1999). Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 391-403. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75245-8.

Yang, W. Z., Beauchemin K. A., and Rode, L. M. (2000). A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *Journal of Dairy Science*, 83, 2512–2520. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75143-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75143-5).

Zilio, E. M. C., Del Valle, T. A., Ghizzi, L. G., Takiya, C. S., Dias, M. S. S. Nunes, A. T., Silva, G. G., and Rennó, F. P. (2019). Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102, 4179–4189. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14949>.

Zinn, R.A., and Salinas J. (1999). Influence of fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing diet. Pages 313–319 in *Proc. Alltech's Fifteenth Annual Symposium*, Nottingham University Press, Loughborough, UK.