



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y
SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

ENZIMA β -MANANASA EN DIETAS PARA VACAS HOLSTEIN
EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

FLORENCIA SÁNCHEZ LÓPEZ

Bajo la supervisión de: CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL, M.C.



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



Chapingo, México, a junio de 2019

ENZIMA β -MANANASA EN DIETAS PARA VACAS HOLSTEIN EN EL
PERIODO DE TRANSICIÓN

Tesis realizada por **FLORENCIA SÁNCHEZ LÓPEZ** bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

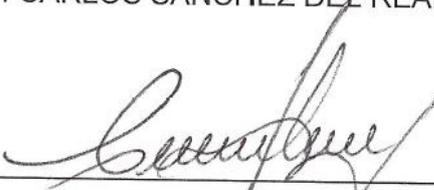
MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



M.C. CARLOS SÁNCHEZ DEL REAL

ASESOR:



M.C. CONSTANTINO ROMERO MÁRQUEZ

ASESOR:



DR. LUIS ALBERTO MIRANDA ROMERO

CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIAS	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Periodo de transición de la vaca lechera	2
2.2. Periodo seco inicial	3
2.3. Periodo seco preparto.....	3
2.4. Parto	4
2.5. Posparto temprano	4
2.6. Modificaciones ruminales.....	5
2.7. Nutrición de la vaca lechera en transición	7
2.8. Consumo de materia seca	7
2.9. Enzimas	9
2.10. Propiedades físicas de las enzimas	10
2.11. Sitio activo de las enzimas	11
2.12. Mecanismo de acción de las enzimas	12
2.13. Factores que afectan la actividad enzimática	12
2.14. Nomenclatura y clasificación de las enzimas	16
2.15. Enzimas exógenas	17
2.16. Fibra	17
2.17. β -Mananos	18
2.18. Enzima β -Mananasa.....	20
2.19. Literatura citada.....	22
3. ENZIMA β-MANANASA EN DIETAS PARA VACAS HOLSTEIN EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN	28
3.1. Resumen	28
3.2. Abstract.....	29

3.3.	Introducción	30
3.4.	Materiales y métodos.....	31
3.4.1	Área de estudio.....	31
3.4.2	Animales y tratamientos.....	31
3.4.3	Manejo de las vacas	32
3.4.4	Rutina de alimentación y medición del consumo	32
3.4.5	Manejo de la ordeña y medición de la producción y contenido de leche	34
3.5.	Análisis estadístico	35
3.6.	Resultados y discusión	36
3.6.1	Consumo de materia seca	36
3.6.2	Producción de leche	37
3.6.3	Composición de la leche y conteo de células somáticas	40
3.7.	Conclusiones	43
3.8.	Literatura citada	43

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Principales β -mananasas y su clasificación.	21
Cuadro 2. Ingredientes y composición nutrimental en base seca de las dietas pre y pos-parto para vacas Holstein en condiciones de confinamiento.	34
Cuadro 3. Consumo de materia seca (CMS) durante el parto y posparto por vacas que consumen 0 y 0.1% de la enzima β -mananasa.	36
Cuadro 4. Producción de leche (PL) de vacas que consumen en la dieta 0 y 0.1% de la enzima β -mananasa.	38
Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos (+ error estándar) de contenido de la leche y conteo de células somáticas de vacas que consumen 0 y 0.1% de la enzima β -mananasa en la dieta	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Etapas del ciclo productivo y periodo de transición de una vaca lechera, adaptado de Sepúlveda & Wittwer (2017).....	3
Figura 2. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas (Hernández, 2018).....	8
Figura 3. Conformación de una enzima (Bohinski, 1991).	11
Figura 4. Estructura típica de manano con cadena principal de enlaces β -1,4-residuos de manosa (Moreira & Filho, 2008).	19
Figura 5. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia, alimentadas con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.	37
Figura 6. Producción de leche de vacas en inicio de la lactancia, con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.	39
Figura 7. Producción de leche ajustada al 4% de grasa de vacas al inicio de la lactancia, con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.	39
Figura 8. Conteo de células somáticas en leche de vacas en inicio de la lactancia, con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta. .	43

DEDICATORIAS

Con todo cariño para las personas que me motivaron a realizar y culminar con el presente trabajo, por sus consejos, por sus reproches y por instruirme en el camino de la vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater

Universidad Autónoma Chapingo
Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia
Posgrado en Producción Animal

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por proveer los fondos para estudiar la Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera.

Al M.C Carlos Sánchez del Real por su valiosa dirección, dedicación, apoyo, confianza, paciencia, y por compartir su conocimiento durante mi estancia como estudiante, para culminar el trabajo de investigación.

Al M.C. Constantino Romero Márquez por sus enseñanzas, consejos, tiempo y empeño en la realización de la presente tesis.

Al Ph.D. Luis Alberto Miranda Romero por sus enseñanzas, confianza, tiempo y empeño en la realización de la presente tesis.

Al Ph.D. Carlos Cántora González por sus enseñanzas, confianza y amistad brindada durante la estancia en esta institución.

A cada uno de los profesores del posgrado por contribuir a mi formación profesional.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Florencia Sánchez López
Fecha de nacimiento	25 de julio de 1990
Lugar de nacimiento	Santa María Zaniza, Sola de Vega, Oaxaca
CURP	SALF900725MOCNPL04
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula profesional	9621141
E-mail	florencia25sanchez@gmail.com



Desarrollo académico

Maestría	Posgrado en Producción Animal (2017-2018) Universidad Autónoma Chapingo
Licenciatura	Departamento de Zootecnia (2010-2014) Universidad Autónoma Chapingo

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El manejo nutricional de los bovinos productores de leche es un aspecto importante en la producción, y el manejo del periodo en transición de la vaca lechera tiene impacto determinante en la eficiencia productiva. Las necesidades nutricionales durante este periodo sufren cambios considerables, al pasar de un estado gestante sin producir leche a uno no gestante y con producción creciente de leche. En las primeras semanas posparto, las vacas requieren adaptar sus requisitos nutricionales a las exigencias de la producción y el manejo a las limitaciones fisiológicas para alcanzar la máxima producción de leche (Drackley, 1999).

Los sistemas actuales de producción de leche demandan alternativas de alimentación para las vacas durante el periodo de transición, que van desde la selección de granos y forrajes con una elevada calidad nutricional, hasta el uso de enzimas exógenas para mejorar la digestibilidad de las paredes celulares de los forrajes y granos (Rojo-Rubio et al., 2007), para incrementar la productividad y reducir los costos en los sistemas de producción de rumiantes (Schingoethe, Stegeman, & Treacher, 1999).

La β -mananasa es una enzima exógena que degrada los polisacáridos de β -mananos en oligosacáridos de mananos o manosa para la mejor utilización de la energía (Moreira & Filho, 2008). Ingredientes utilizados en la alimentación animal, como el caso del maíz, granos secos de destilería, cascarilla de soya, pasta de soya y otros, presentan polisacáridos de β -mananos (Mok, Lee, & Kim, 2013). La adición de β -mananasa a la dieta se ha estudiado extensamente en no rumiantes (Daskiran, Teeter, Fodge, & Hsiao, 2004; Jackson, Anderson, Hsiao, Mathis, & Fodge, 2003; Jackson, Geronian, Knox, McNab, & McCarney, 2004; Mok et al., 2013; Mussini et al., 2011; Kim et al., 2017), incrementando la ganancia diaria de peso por la mejora de la digestibilidad de los nutrientes y mejorando la utilización de la energía de la dieta; sin embargo, existe poca información sobre el uso de la β -mananasa en la alimentación de rumiantes y específicamente en vacas lecheras durante el periodo de transición.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del uso de la enzima β -mananasa en el consumo de materia seca en vacas lecheras durante el periodo de transición, y en la producción y composición de la leche hasta los 60 días.

El Capítulo 2 hace referencia a la revisión de literatura, en donde se describe la importancia del periodo de transición de la vaca, así como del uso de la enzima β -mananasa en la alimentación de los animales.

El Capítulo 3 se refiere al artículo científico derivado del trabajo de tesis, mostrando los resultados obtenidos con la adición de la enzima β -mananasa en dietas para vacas Holstein en el periodo de transición.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Periodo de transición de la vaca lechera

Es considerado como el lapso que transcurre desde los 21 días preparto hasta los 21 días después del parto. En este periodo la vaca pasa de un estado gestante no lactante a uno no gestante y lactante; en esta etapa experimenta cambios metabólicos para apoyar la lactancia subsecuente. Las investigaciones han ayudado a dilucidar dichos cambios metabólicos en el hígado, el tejido adiposo, el músculo esquelético y la glándula mamaria (Drackley, Donkin, & Reynolds, 2006), con el objetivo práctico de ofrecer un manejo nutricional que coadyuve a dichas adaptaciones metabólicas durante este periodo (Overton & Waldron, 2004).

Esta etapa prioritaria de atención de la vaca lechera, que comprende seis semanas, tres semanas preparto y tres posparto (Drackley, 1999; Grummer, 1995; Sepúlveda & Wittwer, 2017), está denominado por un proceso 'homeorrético' que coordina los cambios en el metabolismo de los tejidos corporales para apoyar el estado fisiológico presente (Lean et al., 2014).

El periodo de transición es especialmente importante para la salud de la vaca (Neave, Lomb, von Keyserlingk, Behnam-Shabahang, & Weary, 2017); en esta etapa las limitaciones nutricionales o de manejo restringen la capacidad de la vaca para alcanzar su producción máxima de leche, debido al rezago en

el consumo de materia seca y, por lo tanto, en el suministro de nutrientes (Drackley, 1999). Las vacas experimentan un balance negativo de energía, hipocalcemia y función inmune reducida poco antes, o posterior al parto; un tercio de las vacas lecheras pueden verse afectadas por alguna forma de enfermedad metabólica o infecciosa en la lactancia temprana (Leblanc, 2010).

Durante el periodo de transición las vacas experimentan eventos estresantes, entre los cuales incluye la reagrupación, cambios en la dieta, el parto y el inicio de la lactancia, además de su preparación para la síntesis y secreción de calostro (Neave et al., 2017). La producción de leche inicia en la primera etapa del periodo de transición, seguido de la etapa de lactancia inicial, media y lactancia final (Figura 1). A través del conocimiento de estos periodos se establecen las reglas de manejo para minimizar los riesgos metabólicos, sanitarios y productivos que suceden.

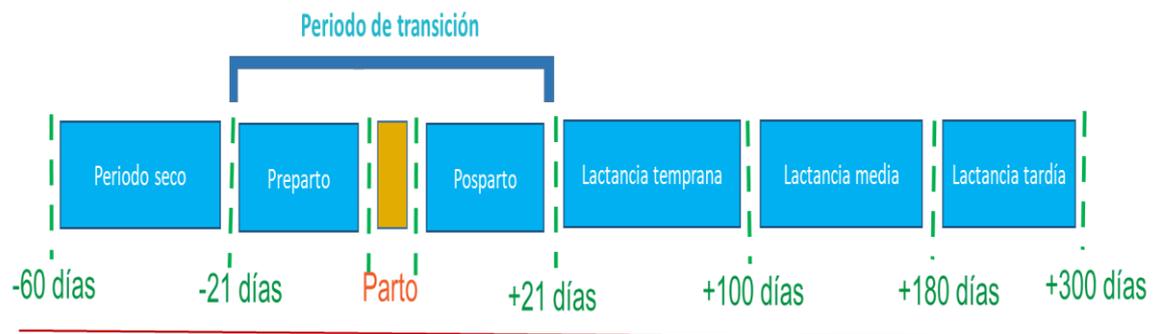


Figura 1. Etapas del ciclo productivo y periodo de transición de una vaca lechera, adaptado de Sepúlveda & Wittwer (2017).

2.2. Periodo seco inicial

Esta etapa comprende desde el momento en que la vaca es secada hasta tres semanas antes del parto y es usada para regenerar el tejido de la glándula mamaria y de la pared ruminal, además de que hay modificaciones de las poblaciones microbianas del rumen (Capuco, Akers, & Smith, 1997). Durante este periodo de aproximadamente cinco semanas se considera necesario mantener un estado nutricional bajo.

2.3. Periodo seco preparto

Este periodo que abarca las últimas tres semanas antes del parto, es crítico dado que aumentan las necesidades energéticas por el desarrollo fetal y

síntesis del calostro. Durante esta fase el consumo de materia seca disminuye en un 30 a 35% (Grummer, 1993; Grummer, 1995), y de un 20 a 40% en la última semana (Hayirli & Grummer, 2004), lo cual ha sido atribuido a la elevada concentración de estrógenos durante el parto.

Este desfase entre consumo y demanda de nutrientes genera un balance energético negativo (BEN) hacia finales de la gestación, que se prolonga varias semanas después del parto (Grummer, Mashek, & Hayirli, 2004). La incidencia de desórdenes que se presentan en el posparto se asocia fundamentalmente con el manejo y la alimentación de la vaca durante este periodo (Sepúlveda & Wittwer, 2017).

2.4. Parto

Atkinson (2016) refiere que este proceso marca el fin de una condición metabólica de gestación y el inicio de la producción de leche, con todas las adecuaciones fisiológicas asociadas que deben de ser ajustadas en pocas horas; rara vez las vacas enferman antes del parto, por lo que la mayoría de los problemas de salud se producen poco antes y después del parto. Este autor señala que el periodo de parto es de alto riesgo para las vacas lecheras, donde pueden ocurrir trastornos como fiebre de leche, cetosis clínica, desplazamiento de abomaso, mastitis, metritis y endometritis, con la consecuente reducción de la fertilidad; cuanto mayor sea el potencial de producción de leche de la vaca, mayor es el desafío, y como muchas de las enfermedades están interrelacionadas, las vacas a menudo sufren trastornos múltiples.

2.5. Posparto temprano

Este periodo se considera el inicio de la lactancia, donde se presenta un incremento acelerado en los requisitos nutrimentales de la vaca causando un BEN, que puede prolongarse durante varias semanas. Las primeras semanas de lactancia representan un periodo de mayor riesgo para la salud del ganado lechero, se estima que más del 50% de las vacas durante este periodo padecen al menos un trastorno clínico o subclínico (Bradford, Yuan, Farney, Mamedova, & Carpenter, 2015; Urton, von Keyserlingk, & Weary, 2005), y que el 75% de los eventos de alguna enfermedad ocurren dentro de las tres

semanas posteriores al parto (LeBlanc, Lissemore, Kelton, Duffield, & Leslie, 2006).

La vaca posparto muestra cambios significativos en el comportamiento alimentario, además de alteraciones en los metabolitos circulantes, hormonas y factores neuroendocrinos que reflejan los cambios homeorréticos (Huzzey, Von Keyserlingk, & Weary, 2005). Las concentraciones de ácidos grasos no esterificados en plasma aumentan antes y al momento del parto, lo que resulta en un incremento de la absorción de ácidos grasos por el hígado, la esterificación de ácidos grasos y el almacenamiento de triglicéridos (Grummer, 1993).

La lactancia temprana se considera un periodo de alto riesgo, debido a que la degradación de las respuestas inflamatorias resultan en una reducción inherente de la inmunidad alrededor del parto y por ello, en una vaca menos capaz de responder a nuevas infecciones, adicionando el hecho de que sus requisitos nutrimentales no se cubren con lo que la vaca consume (Atkinson, 2016). Adicionalmente menciona que durante el posparto temprano es importante la regulación de los procesos metabólicos que impulsan el desarrollo continuo de las ubres, la recuperación del apetito, la función del sistema inmunológico y el reinicio de la actividad ovárica.

2.6. Modificaciones ruminales

Parte del proceso de adaptación en el rumen implica el alargamiento de las papilas ruminales y un aumento en el área de absorción de las mismas; las papilas del rumen son responsables de la absorción de los ácidos grasos volátiles (AGV) (Andresen, 2001).

Después del parto, el consumo de carbohidratos fermentables en las vacas se incrementa rápidamente, estos son intensamente fermentados por las bacterias ruminales, lo que duplica la producción y concentración de AGV en el fluido ruminal; con las dietas altas en almidón existe un crecimiento de las papilas ruminales (Dieho, Dijkstra, Klop, Schonewille, & Bannink, 2017); una disminución del pH y acumulación de ácido láctico, principales causas de la acidosis ruminal (Jouany, 2006); y afectación de las proporciones molares de

acético, propiónico y butírico (Bannink, Dijkstra, Koopmans, & Mroz, 2006). Los AGV podrían ser absorbidos con mayor rapidez en un medio ácido, pero si las papilas ruminales no tienen suficiente tiempo para alargarse, la absorción es limitada (Jouany, 2006).

El ácido propiónico sintetizado a partir de dietas altas en granos, favorece el alargamiento de las papilas, mientras que las dietas ricas en fibra las mantienen cortas (Andresen, 2001). Durante las primeras siete semanas del periodo seco, se pierde hasta 50% del área de absorción del rumen, y la recuperación de esta situación toma varias semanas después de reestablecer el consumo de concentrado (Andresen, 2001).

El tiempo necesario para que las papilas logren su tamaño máximo, posterior a un cambio en la dieta, oscila entre cuatro y seis semanas, por esta razón es aconsejable que a las vacas se les suministre concentrado tres semanas antes del parto. La función del concentrado es estimular el desarrollo de las papilas del rumen y optimizar el crecimiento de los microorganismos específicos encargados de degradar determinados nutrientes (Sepúlveda & Wittwer, 2017).

La estimulación del área superficial de las papilas ruminales durante el periodo seco resulta ser una estrategia efectiva para prevenir altas concentraciones de AGV y un decremento repentino del pH ruminal durante la lactancia temprana (Dieho et al., 2017).

Se ha demostrado que la tasa de absorción de los AGV aumenta a medida que incrementa el área de superficie de las papilas y que el área de las papilas aumenta cuando los animales tienen un estado de nutrición más alto. Sin embargo, un aumento en el área de la superficie de la papila no necesariamente resulta en un aumento en la tasa de absorción de los AGV, debido a otros factores como el flujo sanguíneo epitelial que afecta la absorción y que el flujo de sangre en el área de la superficie de las papilas puede ser un factor limitante para el aumento de la absorción de los AGV (Dieho, Dijkstra, Schonewille, & Bannink, 2016)

La tasa de absorción de AGV puede aumentar independientemente de los cambios en el área de la superficie de la papila, posiblemente por un aumento de flujo sanguíneo dando como resultado un aumento de la capacidad de absorción de AGV después del parto (Dieho et al., 2016).

2.7. Nutrición de la vaca lechera en transición

El tránsito adecuado de un estado gestante a otro lactante es importante para un alto rendimiento productivo y reproductivo durante el posparto en los animales lecheros (Van Saun, 2016). Por otro lado, una deficiente transición conduce a enormes pérdidas económicas para los productores (Wankhade et al., 2017). El manejo nutricional adecuado de los bovinos lecheros en el periodo de transición puede mejorar sus respuestas a los desafíos metabólicos durante el último tercio de la gestación y la lactancia temprana (Bell, 1995; Drackley et al., 2006; Lean et al., 2014).

Andresen (2001) señala que los cambios en el consumo de materia seca, así como en el estado hormonal y metabólico de los animales se presentan de manera dramática durante esta fase; el rápido incremento en la producción de leche se ve acompañado por la movilización de tejido adiposo y un lento incremento en el consumo de materia seca.

2.8. Consumo de materia seca

Uno de los mayores desafíos a los que se enfrenta la vaca en la etapa de transición es obtener energía suficiente para apoyar el inicio de la lactancia, especialmente dado que el consumo de alimento tiende a disminuir al momento del parto (Drackley, 1999). El consumo de alimento se mide en términos de consumo de materia seca (CMS) y comúnmente se usa como un indicador del estado nutricional de la vaca. Parece paradójico que en la etapa de transición el CMS sea más bajo cuando la demanda de nutrientes aumenta a alta velocidad, durante este periodo el CMS se encuentra en el punto más bajo del ciclo de lactancia-gestación (Grummer et al., 2004). Drackley (1999) reporta una disminución del CMS a partir de tres semanas antes del parto, seguido de un aumento gradual en las semanas posteriores al parto (Osborne, Leslie, & McBride, 2002).

Grummer et al. (1990) indican que la disminución en el CMS se relaciona con los cambios en las concentraciones sanguíneas de hormonas esteroidales antes del parto, por lo tanto, se supone que el aumento de estrógenos en la sangre podría ser responsable de la depresión en la ingesta de alimento. Además, de que el crecimiento del feto induce restricciones de espacio y disminuye la capacidad volumétrica del tracto gastro-intestinal.

Hernández (2018) estimó que durante las semanas previas al parto el CMS disminuye, siendo hasta 31% menor en el día del parto, que en la semana 2 preparto. Después del parto, el CMS se incrementa hasta 46.7% en la semana 7 en comparación con el de la semana 1 (Figura 2).

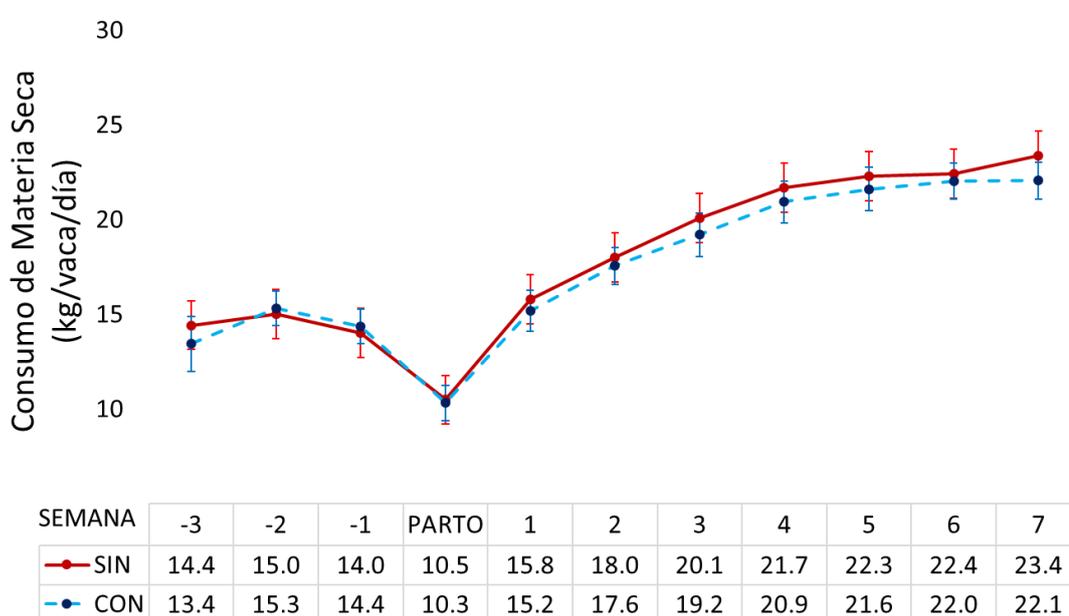


Figura 2. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia alimentadas con y sin dieta adicionada con enzimas (Hernández, 2018).

Grummer et al. (2004) encontraron que el CMS disminuye un poco menos para vaquillas que para vacas, y alcanza aproximadamente 1.3 a 1.4% del peso corporal el día antes del parto; este autor menciona que el CMS promedio para los últimos 21 días antes del parto fue 1.88 y 1.69% del peso corporal para vacas y vaquillas, respectivamente.

La disminución del CMS previo al parto promueve el BEN y, la gran movilización de grasa que ocurre en pre y posparto temprano se acompaña

de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados, este aumento puede conducir a una producción aumentada de B-hidroxibutirato, el cual refleja la importante lipólisis y déficit energético (Grummer 1995)

2.9. Enzimas

Las enzimas son catalizadores de proteínas que facilitan la conversión de sustratos en productos; son sustancias que modifican la velocidad de las reacciones químicas, sin aparecer en las reacciones finales (McDonald, Edward, Greenhalgh, & Morgan, 2002). Se consideran catalizadores biológicos altamente efectivos que participan en todos los procesos metabólicos; las enzimas se producen por organismos vivos y son de naturaleza orgánica (Adrio & Demain, 2014).

Las enzimas se usan para catalizar la síntesis de moléculas específicas de interés (Yadav, Sehrawat, & Sangwan 2014), y tienen la capacidad de realizar transformaciones químicas específicas al interior de la célula (Kumar, Singh, Sangwan, & Kaur, 2014). Su función es aumentar la velocidad de diversas reacciones químicas, es decir, convierten moléculas complejas en sus constituyentes más simples (glucosa, xilosa y celobiosa), tanto en las bacterias como en el contenido ruminal (Huber, 1985).

De acuerdo con Bohinski (1991) y McDonald et al. (2002), las enzimas poseen tres características:

1. Son catalizadores eficientes, ya que bastan cantidades pequeñas para acelerar una reacción. Pueden aumentar el ritmo de las reacciones hasta 10^9 - 10^{12} veces, en comparación con el de las reacciones no catalizadas.
2. La mayoría de las enzimas se distinguen por una acción específica, lo que significa que cada conversión de un sustrato en un producto es catalizada por una enzima específica.
3. Las acciones de las enzimas son reguladas, es decir, pueden cambiar de un estado de baja actividad a otro de alta actividad.

Las enzimas microbianas son de importancia en el desarrollo de bio-procesos industriales y son más usadas que las enzimas derivadas de plantas o

animales, por la variedad de actividades catalíticas y mayor estabilidad que presentan (Adrio & Demain, 2014).

2.10. Propiedades físicas de las enzimas

Todas las enzimas son proteínas globulares y cada una tiene funciones específicas, la mayoría de las enzimas están constituidas por proteínas complejas de alto peso molecular; ciertas proteínas pueden actuar por sí mismas como catalizadores eficientes y muchas otras dependen de la cooperación de sustancias aprotéicas llamadas cofactores (McDonald et al., 2002).

Bohinski (1991) señaló que existen cofactores orgánicos e inorgánicos, los primeros se suelen llamar coenzimas, estas son relativamente escasas, pero cada una de ellas puede asociarse a diferentes enzimas y, de este modo, intervenir en gran cantidad de reacciones. Adicionalmente menciona que las coenzimas en su mayoría son vitaminas hidrosolubles o se forman a partir de ellas; varias vitaminas del complejo B han sido identificadas como componentes primordiales de las coenzimas.

El conjunto molecular de la proteína y su cofactor se llama *haloenzima*, estas son enzimas combinadas y manifiestan la actividad catalítica. El componente proteínico, despojado de su cofactor, se conoce como *apoenzima*, y exhibe una actividad muy baja, a menudo nula (Figura 3).

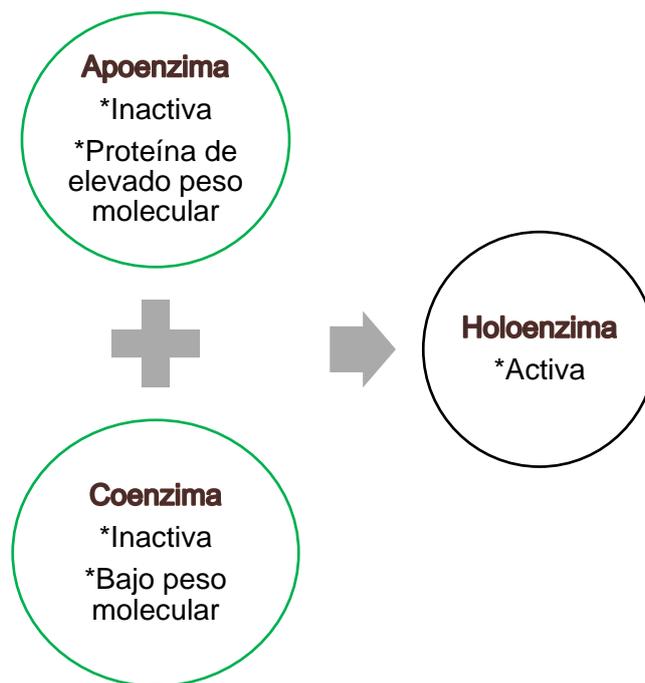


Figura 3. Conformación de una enzima (Bohinski, 1991).

2.11. Sitio activo de las enzimas

El fenómeno inicial en cualquier proteína asociada con una función metabólica es su fijación al sustrato. La superficie de cada enzima contiene por lo menos un lugar específico, llamado sitio activo, en el que ocurren los fenómenos de fijación y conversión química; para la mayoría de las enzimas, la región del sitio activo comprende solo el 5% de la superficie molecular total de la proteína (Bohinski, 1991).

Bohinski (1991) menciona que el sitio activo comprende un grupo integrado por unos cuantos grupos R (cadena lateral) de aminoácidos, algunos de los cuales participan en la fijación del sustrato y otros intervienen en la química de la formación del producto; el sitio activo de una enzima (a veces denominado centro catalítico) es la porción de la molécula que interactúa con el sustrato y lo convierte en producto.

La especificidad del sustrato está determinada por las propiedades químicas y por la disposición espacial de los residuos de aminoácidos que forman el sitio activo de una enzima (Martínez, Asad, Furnham, & Thornton, 2015).

2.12. Mecanismo de acción de las enzimas

De acuerdo con McDonald et al. (2002), para que las reacciones químicas tengan lugar, la molécula reactiva debe pasar por un estado de transición de alta energía; dicho estado puede considerarse como etapa intermedia de la reacción en que las moléculas se distorsionan. Las moléculas de una muestra tienen distinta energía y solo algunas pueden pasar la barrera energética representada por el estado de transición, lo que ocasiona que la reacción puede no tener lugar o hacerlo muy lentamente, por lo anterior, resulta necesario disminuir la barrera energética, mediante la función realizada por los catalizadores (McDonald et al., 2002).

Bohinski (1991) refiere que es necesario que se forme un complejo entre la enzima y el sustrato para que la enzima pueda actuar, este complejo se rompe después, dejando en libertad los productos de la reacción y la enzima inalterada; es decir, la enzima (E) y el sustrato (S) se combinan para formar el complejo ES, posteriormente este complejo se descompone para formar los productos y la enzima libre en su forma original para futuras reacciones con otra molécula de similar sustrato. En la catálisis enzimática, la enzima fija específicamente sus sustratos y las reacciones se llevan a cabo en los confines del complejo ES (McDonald et al., 2002).

La mayoría de las enzimas se caracterizan por parámetros cinéticos; la eficacia catalítica podría aumentar potencialmente por evolución natural o inducida (Bar-Even et al., 2011).

2.13. Factores que afectan la actividad enzimática

La actividad enzimática es una propiedad característica de las enzimas, que se ha definido como el efecto catalítico producido por la enzima en proporción con la cantidad presente de esta en el medio reactivo. De acuerdo con Nelson y Cox (2006) la actividad de una enzima se mide mediante la determinación de la cantidad de sustrato formado por unidad de tiempo en condiciones definidas y controladas; se expresa en Unidades Internacionales (IU) de actividad enzimática. La unidad de actividad enzimática se define como la

cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato por minuto de reacción en condiciones óptimas (Nelson & Cox, 2006).

La catálisis enzimática está influenciada por factores físicos y químicos como son: concentración de la enzima-sustrato, temperatura, pH (Acosta & Cárdenas, 2006), actividad del agua, la presencia de diferentes moléculas en el medio (Austin, 2015), la concentración de ion hidrógeno y activadores e inhibidores enzimáticos (Murray et al. 2010). Las diferencias en la actividad de la enzima también ocurren dependiendo de su origen.

En cualquier sistema en que la enzima se encuentre en exceso y su concentración permanezca constante, el aumento en la cantidad de sustrato determina un incremento en la velocidad de la reacción. La concentración de sustrato es uno de los factores más importantes que determinan la velocidad de las reacciones enzimáticas, el aumento constante en la concentración de sustrato aumenta la velocidad de reacción hasta llegar al punto de saturación, en donde, cualquier aumento en la concentración del sustrato no provocaría un cambio en la velocidad de reacción, debido a la incompleta unión de la enzima y el sustrato, como resultado de la competencia de las moléculas del sustrato en exceso por los centros activos (McDonald et al., 2002).

En los sistemas en que el sustrato se encuentra en exceso, el aumento en la cantidad de enzimas determina un incremento lineal en la velocidad de la reacción, debido a la existencia de una mayor cantidad de centros activos para la formación de los complejos ES (McDonald et al., 2002). El aumento subsiguiente en la cantidad de enzima, puede dar lugar a que se ponga de manifiesto algún factor limitante, como la disponibilidad de la coenzima (McDonald et al., 2002).

La eficiencia de las reacciones catalizadas por enzimas, mejoran al aumentar la temperatura, la velocidad de reacción se duplica por cada aumento de 10 $^{\circ}\text{C}$; sin embargo, a medida que se eleva la temperatura, comienza la desnaturalización de la parte proteica de la enzima; se trata de una reordenación molecular que determina la pérdida de los centros activos de la

superficie de la enzima, lo que determina un descenso en la eficiencia (Acosta & Cárdenas, 2006).

Las enzimas trabajan en un pH característico, en el cual su actividad es máxima, por encima o por debajo de éste, la actividad disminuye e impide así la extensión y velocidad de la reacción biológica; por esto, los perfiles de las curvas de actividad en función del pH tienen generalmente forma acampanada; los valores de pH dependen del tipo de enzima, las enzimas digestivas actúan en pH ácido, mientras que las enzimas extracelulares presentan actividad a pH ácido o alcalino (Arroyo, 1998).

La concentración de sales o salinidad también afecta el potencial iónico y en consecuencia puede interferir en ciertos enlaces de las enzimas, los cuales pueden formar parte del sitio activo de la misma afectando la actividad enzimática (Purich, 2010).

Algunas enzimas requieren la presencia de otros elementos para funcionar mejor, estos pueden ser cationes metálicos inorgánicos como: Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Na^+ , K^+ ; y, en raras ocasiones, también se necesitan aniones para la actividad enzimática, estos pequeños iones se denominan cofactores enzimáticos; existe otro grupo de elementos que favorecen la actividad de las enzimas, llamados coenzimas, que son moléculas orgánicas que contienen carbono (Purich, 2010). Adicionalmente este autor menciona que todos los activadores tienen el efecto final de mejorar la unión del sustrato o aumentar el acceso al sustrato al estado de transición.

La activación de una enzima puede ser menos común que la inhibición. De acuerdo con Purich (2010), los efectos de mejora de la catálisis por los activadores se clasifican en dos grupos:

1. Activador esencial: molécula que es absolutamente requerida para que una enzima exhiba cualquier actividad.
2. Activador no esencial: molécula que estimula una enzima que exhibe actividad catalítica residual.

Por otro lado, existen los inhibidores enzimáticos, que son sustancias que tienden a disminuir la velocidad de una reacción catalizada por enzimas (Palmer & Bonner, 2007). La mayoría de los inhibidores de enzimas se unen dentro del sitio activo; en todos los casos, los inhibidores atrapan la enzima en una forma catalíticamente inactiva, lo que reduce la concentración de catalizador activo (Purich, 2010).

Palmer y Bonner (2007) señalan que los inhibidores reversibles se unen a una enzima de manera reversible y estos pueden ser eliminados para restaurar la actividad enzimática completa, forman un sistema de equilibrio con la enzima para mostrar un grado definido de inhibición; mientras que los inhibidores irreversibles no pueden eliminarse de una enzima (metales pesados) y por lo tanto no existe la recuperación de la actividad enzimática.

Existen dos tipos de inhibición enzimática: competitiva y no competitiva:

1. Inhibición competitiva: compuesto químico similar a un sustrato que puede reaccionar con el sitio activo de la enzima, cuando el sitio activo se ha unido a un inhibidor competitivo, bloquea el acceso al sustrato (Murray et al. 2010); actúa al disminuir el número de moléculas de enzima libres disponibles para la unión del sustrato. Los inhibidores competitivos a menudo se parecen a los sustratos cuyas reacciones inhiben, y debido a esta similitud estructural, pueden competir por el mismo sitio de unión en la enzima (Palmer & Bonner, 2007).
2. Inhibidores no competitivos: Compuesto químico que se unen al complejo enzima-sustrato y no a la enzima libre. La unión al sustrato podría causar un cambio estructural en la enzima y disponer un sitio de unión al inhibidor (Palmer & Bonner, 2007), estos inhibidores muestran poco o ninguna semejanza estructural con el sustrato; esta unión no afecta la unión del sustrato y es factible la formación de productos, pero la eficiencia para transformar el sustrato en producto es disminuida (Murray et al. 2010).

2.14. Nomenclatura y clasificación de las enzimas

Las enzimas se denominan con la terminación *-asa-*, tomando como base el tipo de reacción que catalizan o la identidad de los sustratos participantes en la reacción; conforme se fueron descubriendo más enzimas con funciones diversas se crearon otros nombres. Las enzimas se clasifican en seis clases principales, de acuerdo con su mecanismo de acción (Bohinski, 1991; Martínez et al., 2015; McDonald et al., 2002):

1. Oxidorreductasas: presentan reacciones de oxidorreducción, catalizan la transferencia de hidrógeno, oxígeno o electrones de unas moléculas a otras.
2. Transferasas: constituyen un gran grupo de enzimas que catalizan la transferencia de grupos como acetilo, amino y fosfato, de unas moléculas a otras.
3. Hidrolasas: catalizan el rompimiento hidrolítico (con participación de agua) de enlaces; son típicas las hidrolasas de grasa y proteína, que son esenciales para el normal funcionamiento del organismo.
4. Liasas: son enzimas que catalizan degradaciones no hidrolíticas, que suponen la retirada de ciertos grupos como en las descarboxilaciones y desaminaciones.
5. Isomerasas: catalizan los cambios en la distribución intramolecular en los isómeros ópticos y de posición.
6. Ligasas: catalizan reacciones que unen dos moléculas con la degradación de enlaces fosfatos de alta energía como en el ATP que aportan la energía necesaria para la reacción.

En 1972, el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular recomendó un sistema de nomenclatura para la clasificación de las enzimas. El nombre sistemático sirve para expresar la acción de la enzima; está formado por dos partes, la primera debe designar el sustrato y la segunda la terminación *-asa-*, que indicarían la reacción catalizada por la enzima (McDonald & Tipton, 2014).

Las enzimas recibieron números codificados, utilizando un código de cuatro números, sobre la base de las reacciones que catalizan; los números EC

(Enzyme Commission Numbers), son un esquema de clasificación numérica para las enzimas, cada código de enzimas consiste en las dos letras EC, seguidas por 4 números separados de acuerdo con el siguiente esquema (McDonald & Tipton, 2014):

- I. El primer dígito indica la clase, de las seis principales, a que pertenece la enzima.
- II. El segundo dígito, indica la sub-clase.
- III. El tercer dígito, indica la sub-sub-clase.
- IV. El cuarto dígito, indica a la enzima.

2.15. Enzimas exógenas

Las enzimas exógenas hacen referencia a aquellas que no pertenecen a determinado sistema y que son introducidas al mismo. En este sentido, las enzimas exógenas alimenticias para rumiantes son incorporadas al sistema digestivo endógeno del animal, mediante el alimento, las cuales degradan los componentes del alimento difíciles de degradar por las enzimas digestivas endógenas, o aquellos que de otro modo serían perjudiciales o de poco o ningún valor nutritivo (Rojo-Rubio et al., 2007); lo que conduce a una mayor eficiencia en la utilización del alimento y representan una alternativa para incrementar la productividad y reducir los costos por alimentación.

Barletta (2010) señala que las enzimas alimenticias ayudan a descomponer los factores antinutricionales que están presentes en muchos ingredientes de la alimentación, estos factores interfieren disminuyendo la digestión, dando como resultado una reducción en la eficiencia alimenticia.

2.16. Fibra

De acuerdo con Barleta (2010), existen dos tipos de fibra: soluble e insoluble y pueden actuar como compuestos antinutricionales; algunos nutrientes como el almidón y la proteína quedan atrapados dentro de las paredes celulares de la fibra insoluble; las fibras solubles se disuelven en el intestino formando geles viscosos que atrapan los nutrientes y disminuyen la digestión y la tasa de pasaje del alimento; para evitar lo anterior se usan enzimas. Las principales

enzimas que degradan la fibra usadas en la alimentación animal son: xilanasas, β -glucanasa, β -mananasa, pectinasa y α -galactosidasa.

Todos los alimentos contienen fibra compuesta por un complejo de varios carbohidratos conocidos como polisacáridos no amiláceos (NSP, por sus siglas en inglés) (Barletta 2010). Los NSP pueden tener efectos antinutricionales a través de afectar diversos procesos digestivos, fermentativos y de absorción de otros nutrientes; el término de NSP se usa ampliamente en el campo de la nutrición para incluir las moléculas de polisacáridos que excluyen el almidón (Kong, Lee, & Adeola, 2011).

La estructura material de la planta, consiste en celulosa, hemicelulosa y lignina con una relación de 2: 1: 1 (van Zyl, Rose, Trollope, & Gorgens, 2010). La hemicelulosa es un polisacárido de la pared celular de las plantas no solubles en agua pero sí en álcali acuoso; son heteropolisacáridos con cadenas lineales o ramificadas que están compuestos de cuatro monosacáridos que se encuentran en la naturaleza: D-xilosa, D- manosa, D- glucosa y L-arabinosa; la estructura ramificada permite que la hemicelulosa exista en forma amorfa la cual la hace más susceptible a la hidrólisis (Dhawan & Kaur, 2007).

Las hemicelulosas se clasifican de acuerdo con el monosacárido principal presente en la cadena del polímero como: xilanos, mananos, galactanos y arabinanos (Barletta 2010; Dhawan & Kaur, 2007). La mayoría de los azúcares de la cadena principal en la estructura de la hemicelulosa están unidos por enlaces β -1,4-glicosídicos (Moreira & Filho, 2008).

2.17. β -Mananos

Algunas semillas almacenan sustancias de reserva en las paredes celulares, entre ellas las hemicelulosas como los xiloglucanos, galactanos y mananos, (Lara-Núñez & Díaz-Pontones, 2011). Los mananos son uno de los principales constituyentes de la fracción de la hemicelulosa en maderas blandas y duras, en las semillas de las plantas (Dhawan & Kaur, 2007; Handford et al., 2003) y en algunas algas (Huang, Bao, Zou, Che, & Wang, 2012). Comprende

polímeros lineales o ramificados derivados de azúcares tales como D-manosa, D-galactosa (Moreira & Filho, 2008).

Dentro de los NSP se encuentran los β -mananos, éstos son considerados como un grupo resistente al calor, resistentes al desecado o tostado dentro del procesamiento de algunos granos (Kong et al., 2011). Los mananos son componentes estructurales de las paredes celulares del endospermo (van Zyl et al., 2010) y se consideran polímeros de reserva no amiláceo (Lara-Núñez & Díaz-Pontones, 2011).

Los mananos pueden clasificarse en cuatro subfamilias: mananos lineales, glucomananos, galactomananos y galactoglucomananos. Esos polisacáridos están conformados de un esqueleto de manosa o una combinación de glucosa y residuos de manosa, con enlaces β -1,4 (Liepman et al., 2007). Los mananos lineales son homopolisacáridos compuesto de cadenas lineales principales con uniones β -(1-4) de residuos β -D-manopiranosilo y contienen menos del 5% de galactosa (Figura 4) (Moreira & Filho, 2008). Estos están situados entre la lignina y debajo de la colección de fibras de la celulosa, están entremezclados y enlazados covalentemente con la lignina en varios puntos (Dhawan & Kaur, 2007).

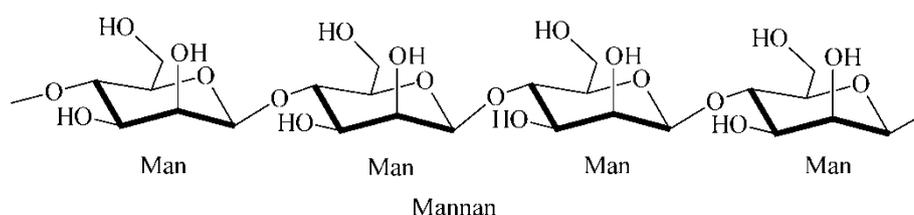


Figura 4. Estructura típica de manano con cadena principal de enlaces β -1,4-residuos de manosa (Moreira & Filho, 2008).

Los mananos pueden formar estructuras cristalinas duras e insolubles, muy similar a la celulosa (Oosterveld, Voragen, & Schols, 2003), higroscópicos, los cuales al hidratarse aumenta la viscosidad del alimento que al adherirse a la superficie intestinal puede afectar la absorción y eficiencia de la utilización de carbohidratos (Xu et al., 2013). También, la naturaleza altamente viscosa del β -manano resulta en un vaciado gástrico lento, que altera la mezcla del sustrato con las enzimas digestivas y reduce la tasa de contacto de los nutrientes con el epitelio absorbente (Kong et al., 2011).

Dhawan y Kaur (2007) mencionan que la reducción en la ganancia diaria de peso y en la eficiencia de la conversión alimenticia ha sido asociada con la viscosidad intestinal debido a los diferentes alimentos. Los β -mananos se encuentran en un gran número de ingredientes que son utilizados como alimentos para los animales, como la pasta de soya, cascarilla de soya, maíz, cebada, trigo, granos secos de destilería; ingredientes que presentan alta viscosidad, comprometiendo la ganancia de peso y la conversión de alimento, así como la absorción de glucosa y agua (Hsiao, Anderson, & Dale, 2006). La incorporación de la enzima β -mananasa en las dietas produce una disminución de la viscosidad intestinal y una mejor absorción de los nutrimentos.

Las enzimas que degradan mananos forman parte de la familia Glicosil Hidrolasas (GH). Las GH y las carbohidrato estereasas incluyen enzimas que degradan celulosa, xilanos, mananos y almidones (<https://www.enzyme-database.org/>). Las enzimas hidrolizan los mananos en azúcares más simples que se pueden usar como energía por microorganismos particulares (Jiang, et al., 2006). Los β -mananos y β -galactomannanos tiene la propiedad de inhibir la secreción de insulina, lo que conlleva a un efecto perjudicial sobre el metabolismo energético (Jackson, 2010).

2.18. Enzima β -Mananasa

Las principales enzimas que hidrolizan los mananos lineales y glucomananos son la endo- β -mananasa y exo- β -manosidasa (Cuadro 1). Las endohidrolasas y exohidrolasas participan en la descomposición del esqueleto principal del manano en oligosacáridos o azúcares fermentables; la β -Mananasa es una hidrolasa de acción *endo*, responsable de la hidrólisis de la uniones internas β -(1-4) del esqueleto de manano de manera aleatoria para producir nuevos extremos de cadenas, liberando β -1,4-manano-oligosacáridos cortos, que pueden hidrolizarse a manosa por β -manosidasas (Dhawan & Kaur, 2007; Moreira & Filho, 2008).

Cuadro 1. Principales β -mananasas y su clasificación.

Enzimas	Sustrato	EC	Familia
Endo- β -1,4-mananasa	β -1,4-Mananos	3.2.1.78	GH 5, 26
Exo- β -1,4-manosidasa	β -1,4-Mananooligomeros, manobiosa	3.2.1.25	GH 1, 2, 5

EC: Enzyme Comission Number.

Fuente: (Dhawan & Kaur, 2007; Moreira & Filho, 2008).

De acuerdo con Dhawan y Kaur (2007), las GH son un grupo de enzimas que hidrolizan los enlaces glicosídicos en oligo y polisacáridos; debido a la complejidad de las estructuras de los carbohidratos con sus diferentes combinaciones en la naturaleza, son requeridas un gran número de enzimas con especificidad en diferentes sustratos. De acuerdo con estos autores, los estudios de comparación de la secuencia de aminoácidos de la β -Mananasa permiten asignar esta enzima para la familia GH 26; la β -Mananasa se usa principalmente para mejorar la calidad de los alimentos.

Jackson (2010) menciona que el mecanismo de acción de la β -mananasa es complejo, pero probablemente esté relacionado con: (i) incremento de la estimulación de la secreción de insulina, la absorción de glucosa y un efecto perjudicial en el metabolismo energético; (ii) su efecto sobre la viscosidad en el intestino y (iii) reducción de la estimulación del sistema inmunitario innato, lo que resulta en un gasto reducido de energía para fines no productivos.

La producción de manano-oligosacáridos puede mejorar la salud de los animales, mediante el incremento de la población de bacterias específicas como *Bifidobacterias*; este tipo de bacterias representan una fuente de alimento para las bacterias en el intestino y, así suprimen los patógenos, o eliminan las bacterias patógenas que se adhieren a los manano-oligosacáridos (Dhawan & Kaur, 2007).

Se ha informado de una gran cantidad de estudios que examinan los efectos de la β -Mananasa en el rendimiento de los animales en diversas circunstancias, principalmente en animales monogástricos.

2.19. Literatura citada

- Acosta, A., & Cárdenas, M. (2006). Enzimas en la alimentación de las aves. *Fitasas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(4), 377-387.
- Adrio, J. L., & Demain, A. L. (2014). Microbial enzymes: Tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, 4, 117-139, doi:10.3390/biom4010117.
- Andresen S. H. (2001). Vacas secas y en transición. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 36-48.
- Arroyo, M. (1998). Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones. *Ars Pharmaceutica*, 39(2), 23-39.
- Atkinson, O. (2016). Management of transition cows in dairy practice. *In Practice*, 38(5), 229-240, doi:10.1136/inp.i1829.
- Austin, D. L. (2015). Enzymes: Extending Shelf Life and Eating Quality of Tortillas. In Rooney L. W. & Serna-Saldivar S.O. (Eds.), *Tortillas* (pp. 201-214). AACC International Press, doi:10.1016/b978-1-891127-88-5.50010-4.
- Bannink, A., Dijkstra, J., Koopmans, S. J., & Mroz, Z. (2006). Physiology, regulation and multifunctional activity of the gut wall: a rationale for multicompartamental modelling. *Nutrition Research Reviews*, 19(2), 227-253, doi:10.1017/nrr20060132.
- Bar-Even, A., Noor, E., Savir, Y., Liebermeister, W., Davidi, D., Tawfik, D. S., & Milo, R. (2011). The Moderately Efficient Enzyme: Evolutionary and Physicochemical Trends Shaping Enzyme Parameters. *Biochemistry*, 50(21), 4402-4410, doi:10.1021/bi2002289.
- Barletta, A. (2010). Introduction: Current market and expected developments, in, Bedford, M. R., Partridge, G. G. (Eds.). *Enzymes in farm animal nutrition*, 2nd edition, (1-11), CABI.
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2804-2819.
- Bohinski, R. C. (1991). *Bioquímica* (5a ed.). Massachusetts, E.U.A, Adison-Wesley Iberoamericana.
- Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K., & Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 6631-6650, doi:10.3168/jds.2015-9683.
- Capuco, A. V., Akers, R. M., & Smith, J. J. (1997). Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology.

Journal of Dairy Science, 80(3), 477-487, doi:
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75960-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75960-5).

- Daskiran, M., Teeter, R. G., Fodge, D., & Hsiao, H. Y. (2004). An evaluation of endo- β -D-mannanase (Hemicell) effects on broiler performance and energy use in diets varying in β -mannan content. *Poultry Science*, 83, 662-668, <https://doi.org/10.1093/ps/83.4.662>.
- Dhawan, S., & Kaur, J. (2007). Microbial mannanases: An overview of production and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27(4), 197-216, doi:10.1080/07388550701775919.
- Dieho, K., Dijkstra, J., Klop, G., Schonewille, J. T., & Bannink, A. (2017). The effect of supplemental concentrate fed during the dry period on morphological and functional aspects of rumen adaptation in dairy cattle during the dry period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 343-356, doi:10.3168/jds.2016-11575.
- Dieho, K., Dijkstra, J., Schonewille, J. T., & Bannink, A. (2016). Changes in ruminal volatile fatty acid production and absorption rate during the dry period and early lactation as affected by rate of increase of concentrate allowance. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5370-5384, doi:10.3168/jds.2015-10819.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82 (11), 2259–2273, doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3).
- Drackley, J. K., Donkin, S. S., & Reynolds, C. K. (2006). Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1324-1336, doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72200-7.
- Grummer, R. R., Bertics, S. J., Lacount, D. W., Snow, J. A., Dentine, M. R., & Stauffacher, R. H. (1990). Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 73(6), 1537-1543.
- Grummer, R. R. (1993). Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76 (12), 3882-3896, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77729-2
- Grummer, R. R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73(91), 2820–2833, doi: <https://doi.org/10.2527/1995.7392820x>.
- Grummer, R. R., Mashek, D. G., & Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 20(3), 447-470, doi:10.1016/j.cvfa.2004.06.013.
- Handford, M. G., Baldwin, T. C., Goubet, F., Prime, T. A., Miles, J., Yu, X., & Dupree, P. (2003). Localisation and characterisation of cell wall mannan

polysaccharides in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 218(1), 27–36, doi:10.1007/s00425-003-1073-9.

- Hayirli, A., & Grummer, R. R. (2004). Factors affecting dry matter intake prepartum in relationship to etiology of peripartum lipid-related metabolic disorders: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 84(3), 337-347, doi:10.4141/a03-122.
- Hernández, M. P. J., (2018). Enzimas fibrolíticas en dietas para vacas en periodo seco parto e inicio de la lactancia. (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México).
- Hsiao, H. Y., Anderson, D. M., & Dale, N. M. (2006). Levels of β -mannan in soybean meal. *Poultry Science*, 85 (8), 1430-1432, doi: <https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1430>.
- Huang, J. L., Bao, L. X., Zou, H. Y., Che, S. G., & Wang, G. X. (2012). High-level production of a cold-active B-mannanase from *Bacillus subtilis* Bs5 and its molecular cloning and expression. *Molecular Genetics Microbiology and Virology*, 27(4), 147-153, doi:10.3103/s0891416812040039.
- Huber, R. (1985). Ingeniería enzimática. Biotecnología. Scriban R. (ed). Ed. Manual Moderno. México, D.F. pp. 242-254.
- Huzzey, J. M., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2005). Changes in feeding, drinking, and standing behavior of dairy cows during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2454-2461, doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72923-4.
- Jackson, M. E., Anderson, D. M., Hsiao, H. Y., Mathis G. F., & Fodge D. W. (2003). Beneficial effect of b-mannanase feed enzyme on performance of chicks challenged with *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens*. *Avian Diseases*, 47(3), 759-763, doi: <http://dx.doi.org/10.1637/7024>.
- Jackson, M. E., Geronian, K., Knox, A., McNab, J., & McCartney, E. (2004). A dose-response study with the feed enzyme beta-mannanase in broilers provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters. *Poultry Science*, 83 (12), 1992-1996, doi: 10.1093/ps/83.12.1992.
- Jackson, M. E. (2010). Mannanase, alpha-galactosidase and pectinase, in, Bedford, M. R., Partridge, G. G. (Eds.). *Enzymes in farm animal nutrition*, 2nd edition, (1-11), CABI.
- Jiang, Z., Wei, Y., Li, D., Li, L., Chai, P., & Kusakabe, I. (2006). High-level production, purification and characterization of a thermostable β -mannanase from the newly isolated *Bacillus subtilis* WY34. *Carbohydrate Polymers*, 66(1), 88-96, doi:10.1016/j.carbpol.2006.02.030.

- Jouany, J. P. (2006). Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Animal Reproduction Science*, 96(3-4), 250-264, doi:10.1016/j.anireprosci.2006.08.005.
- Kim, J. S., Ingale, S. L., Hosseindoust, A. R., Lee, S. H., Lee, J. H., & Chae, B. J. (2017). Effects of mannan level and -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites of growing pigs. *Animal*, 11(2), 202-208. doi:10.1017/s1751731116001385.
- Kong, C., Lee, J. H., & 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.
- Kumar, V., Singh, D., Sangwan, P., & Kaur, P. G. (2014). Global market scenario of industrial enzymes, In Beniwal, V., & Kumar, S. A. (Eds.), *Industrial enzymes trends, scope and relevance*, (173-196), New York: Nova publishers, Inc. DOI: 10.13140/2.1.3599.0083.
- Lara-Núñez, A., & Díaz-Pontones, D. M. (2011). Movilización de mananos de reserva en semillas durante la germinación y post-germinación. *Revista de Educación Bioquímica*, 30(3), 109-115.
- Lean, I. J., DeGaris, P. J., Celi, P., McNeill, D. M., Rodney, R. M., & Fraser, D. R. (2014). Influencing the future: interactions of skeleton, energy, protein and calcium during late gestation and early lactation. *Animal Production Science*, 54(9), 1177-1189, doi:10.1071/an14479.
- Leblanc, S. (2010). Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. *Journal of Reproduction and Development*, 56, S29-S35, doi:10.1262/jrd.1056S29.
- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1267-1279, doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6.
- Liepman, A. H., Nairn, C. J., Willats, W. G. T., Sorensen, I., Roberts, A. W., & Keegstra, K. (2007). Functional genomic analysis supports conservation of function among cellulose synthase-like a gene family members and suggests diverse roles of mannans in plants. *Plant Physiology*, 143(4), 1881-1893, doi:10.1104/pp.106.093989.
- Martínez, C. S., Asad, R. S., Furnham, F., & Thornton, J. M. (2015). The Classification and evolution of enzyme function. *Biophysical Journal*, 109, 1082-1086, doi:https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.04.020.
- McDonald, P., Edward, R. A., Greenhalgh, J. F. D., & Morgan, C. A. (2002). *Nutrición Animal*. (6a ed.). Zaragoza, España, Editorial Acribia S.A.

- McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2014). Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *Febs Journal*, 281(2), 583-592, doi:10.1111/febs.12530.
- Mok, C. H., Lee, J. H., & 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., & 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.
- Murray, R. k., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, P. A. (2010). *Harper Bioquímica Ilustrada* (28^a ed.). Mexico:Mc Graw Hill.
- Mussini F. J., Coto, C. A., Goodgame, S. D., Lu, C., Karimi, A. J., Lee, J. H., & Waldroup, P. W. (2011). Effect of β -Mannanase on Broiler Performance and Dry Matter Output Using Corn-Soybean Meal Based Diets. *International Journal of Poultry Science*, 10 (10), 778-781, doi: 10.3923/ijps.2011.778.781.
- Neave, H. W., Lomb, J., von Keyserlingk, M. A. G., Behnam-Shabahang, A., & Weary, D. M. (2017). Parity differences in the behavior of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 548-561, doi:10.3168/jds.2016-10987.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2006). *Lehninger: Principios de Bioquímica* (4^a ed.). Barcelona: Omega.
- Oosterveld, A., Voragen, A. G. J., & Schols, H. A. (2003). Effect of roasting on the carbohydrate composition of Coffea arabica beans. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 183-192. doi: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00164-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00164-4).
- Osborne, V. R., Leslie, K. E., & McBride, B. W. (2002). Effect of supplementing glucose in drinking water on the energy and nitrogen status of the transition dairy cow. *Canadian journal of Animal Science*, 82(3), 427-433, doi: <https://doi.org/10.4141/A01-094>.
- Overton, T. R., & Waldron, M. R. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science*, 87, E105-E119, doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70066-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70066-1).
- Palmer, T., & Bonner, P. L. (2007). *Enzymes: biochemistry, biotechnology, clinical chemistry*. (2^a ed.) Elsevier, doi:10.1533/9780857099921.2.126. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/9781904275275/enzymes>. Consultado el 20 de marzo de 2019.

- Purich, D. L. (2010). Enzyme kinetics: catalysis and control: a reference of theory and best-practice methods. *Elsevier*, doi: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-61154-5>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123809247/enzyme-kinetics-catalysis-and-control>. Consultado el 20 de marzo de 2019.
- Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, G. D., Montañez-Valdez, O. D., Rebollar-Rebollar, S., Cardoso-Jiménez, D., Hernández-Martínez, J., & González-Razo, F. J. (2007). Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. *Universidad y Ciencia*, 23 (2), 173-182.
- Schingoethe, D. J., Stegeman, G. A., & Treacher, R. J. (1999). Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 996-1003, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75319-1.
- Sepúlveda, V. P., & Wittwer M. F., (2017). Periodo de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras. Primera edición, Valdivia, Chile. ISBN 978-956-390-030-9.
- Urton, G., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2005). Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science*, 88(8), 2843-2849, doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72965-9.
- Van Saun, R. J. (2016). Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere*, 44(2), 118-126, doi:10.15653/tpg-150947.
- van Zyl, W. H., Rose, S. H., Trollope, K., & Gorgens, J. F. (2010). Fungal beta-mannanases: Mannan hydrolysis, heterologous production and biotechnological applications. *Process Biochemistry*, 45(8), 1203-1213, doi:10.1016/j.procbio.2010.05.011.
- Wankhade, P. R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K. P., Sejian, V., ... & Varghese, M. R. (2017). Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Veterinary World*, 10, 1367-1377, doi: 10.14202/vetworld.2017. 1367-1377.
- Xu, X., Zhang, Y., Meng, Q., Meng, K., Zhang, W., Zhou, X., ... & Yao, B. (2013). Overexpression of a fungal β -mannanase from *Bispora* sp. MEY-1 in maize seeds and enzyme characterization. *PLoS one*, 8(2), e56146, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056146>.
- Yadav, M., Sehrawat, N., & Sangwan, A. (2014). Mechanism of action of key industrial enzymes, In Beniwal, V., & Kumar, S. A. (Eds.), *Industrial enzymes trends, scope and relevance*, (1-14), New York: Nova publishers, IncAcosta, A., & Cárdenas, M. (2006). Enzimas en la alimentación de las aves. *Fitasas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(4), 377-387.

(<https://www.enzyme-database.org/>)

3. ENZIMA B-MANANASA EN DIETAS PARA VACAS HOLSTEIN EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN

3.1. Resumen

Las enzimas exógenas mejoran la eficiencia de utilización del alimento. La β -mananasa es una enzima que digiere el polisacárido β -manano a oligosacáridos de manano o manosa; se ha estudiado extensamente en no rumiantes. El objetivo de estudio fue evaluar el efecto de β -mananasa en el consumo de materia seca (CMS) de vacas en periodo seco preparto y posparto, en la producción (PL) y composición de la leche, y conteo de células somáticas (CCS) hasta los 60 días. El trabajo se realizó en el establo "18 de Julio", en Tlahualilo, Durango, México. Se utilizaron 28 vacas Holstein con dos a cinco lactancias, 260 días de gestación y peso vivo inicial de 781 ± 83 kg. Las vacas fueron aleatorizadas a uno de dos tratamientos: 1) grupo testigo con dieta completa, 2) tratamiento con dieta completa + 0.1% de la enzima β -mananasa (CTCZYME). Se utilizó un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo. Los datos se analizaron mediante PROC MIXED del programa SAS. Los resultados muestran que no hubo efecto entre tratamientos ($p > 0.05$) respecto al CMS en el periodo preparto y posparto, en la PL corregida al 4% de grasa y en el contenido de los componentes de la leche con la adición de β -mananasa, comparado con el grupo control. La PL fue mayor ($p < 0.05$) para vacas alimentadas con CTCZYME en comparación con el control (42.66 ± 1.21 vs 38.24 ± 1.31 kg vaca⁻¹ d⁻¹) y el CCS fue menor ($p < 0.05$) para vacas alimentadas con la enzima (152.59 ± 294.12 vs 1112.64 ± 305.11 miles de células mL⁻¹). La adición de la β -mannanase a la dieta incrementa la producción y disminuye el CCS en la leche, sin tener efecto sobre el CMS, la PL corregida al 4% de grasa y en el contenido de los componentes de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de lactancia.

Palabras Clave: vaca lechera, periodo de transición, enzima β -mananasa

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal,
Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Florencia Sánchez López
Director de Tesis: M.C. Carlos Sánchez del Real

B-MANNANASE ENZYMES IN DIETS FOR HOLSTEIN COWS IN THE TRANSITION PERIOD

3.2. Abstract

Exogenous enzymes improve the efficiency of feed use. The β -mannanase is an enzyme that digests polysaccharide β -mannan to mannan oligosaccharides or mannose; it has been widely studied in non-ruminants. The aim of the study was to assess the effect of β -mannanase in the diet on dry matter intake (DMI) of cows in prepartum and postpartum periods, on milk production (MP), and content, and on somatic cell count (SCC) up to 60 days. The research was carried out in the dairy farm "18 de Julio", at Tlahualilo, Durango, Mexico. Twenty-eight Holstein cows with two to five lactations, 260 days of gestation and initial body weight of 781 ± 83 kg were used. Cows were randomized to one of two treatments: 1) control group with a complete diet, 2) complete diet + 0.1% of the enzyme β -mannanase (CTCZYME). A completely randomized design with repeated measures over time was used. Data were analyzed using PROC MIXED of the SAS program. The results show that there was non-significant effect ($p>0.05$) of treatment on DMI in the pre- and postpartum periods, on MP corrected to 4% fat, and on the milk content. The MP was higher ($p<0.05$) for cows fed CTCZYME compared with the control group ($42.66 + 1.21$ vs $38.24 + 1.31$ kg cow⁻¹ d⁻¹) and the SCC was lower ($p<0.05$) in cows fed the enzyme ($152.59 + 294.12$ vs. $1112.64 + 305.11$ thousands cells mL⁻¹). Therefore, addition of β -mannanase into the diet, increases the milk production and decreases the SCC in the milk, without having effect on DMI, 4% fat corrected MP, and milk content of cows in dry period prepartum and beginning of lactation.

Keywords: dairy cow, transition period, β -mannanase enzyme

Master of Science Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program of Animal Production,
Universidad Autónoma Chapingo
Author: Florencia Sánchez-López
Advisor: M.C. Carlos Sánchez del Real

3.3. Introducción

El manejo nutricional de los bovinos lecheros es un aspecto importante en la producción, y el manejo del periodo de transición de la vaca lechera tiene impacto determinante en la eficiencia productiva. Las necesidades nutricionales durante este periodo sufren cambios considerables, al pasar de un estado gestante sin producir leche a uno no gestante y con producción de leche. En las primeras semanas posparto, las vacas requieren adaptar sus requisitos nutrimentales a las exigencias de la producción y el manejo a las limitaciones fisiológicas para alcanzar la máxima producción de leche (Drackley, 1999).

Los sistemas actuales de producción de leche demandan alternativas de alimentación para las vacas en el periodo de transición, que van desde la selección de granos y forrajes con una elevada calidad nutricional, hasta el uso de enzimas exógenas para mejorar la digestibilidad de las paredes celulares de los forrajes y granos (Rojo-Rubio et al., 2007), incrementar la productividad y reducir los costos en los sistemas de producción de rumiantes (Schingoethe, Stegeman, & Treacher, 1999).

La β -mananasa es una enzima exógena que degrada los polisacáridos de β -mananos en oligosacáridos de mananos o manosa para la mejor utilización de la energía (Moreira & Filho, 2008). Ingredientes utilizados en la alimentación animal, como el caso del maíz, granos secos de destilería, cascarilla de soya, pasta de soya, presentan polisacáridos de β -mananos (Mok, Lee, & Kim, 2013). La adición de β -mananasa a la dieta se ha estudiado extensamente en no rumiantes (Daskiran, Teeter, Fodge, & Hsiao, 2004; Jackson, Anderson, Hsiao, Mathis, & Fodge, 2003; Jackson, Geronian, Knox, McNab, & McCarney, 2004; Mok et al., 2013; Mussini et al., 2011; Kim et al., 2017), mejorando la utilización de la energía de la dieta por la mejora de la digestibilidad de los nutrientes e incrementando la ganancia diaria de peso; sin embargo, existe poca información sobre el uso de la β -mananasa en la alimentación de rumiantes y específicamente en vacas lecheras en el periodo de transición.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del uso de enzima β -mananasa en el consumo de materia seca en vacas lecheras en periodo seco preparto y posparto, y en la producción y composición de la leche hasta los 60 días.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1 Área de estudio

El estudio se realizó de agosto a noviembre de 2017, en el establo “18 de Julio” de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Tlahualilo, Durango, en la región de la Comarca Lagunera de México. El establo se localiza entre las coordenadas 103° 35' 09" longitud oeste y 25° 54' 07" latitud norte, y a 1137 msnm; presenta vegetación desértica (García, 2005), con temperatura y precipitación pluvial media anual durante los cuatro años más recientes de 18.35 °C, y de 234 mm, con lluvias concentradas de julio a septiembre (SMN, 2016).

3.4.2 Animales y tratamientos

Se seleccionaron aleatoriamente 28 vacas adultas de la raza Holstein, de dos a cinco lactancias, con aproximadamente 260 d de gestación y condición corporal promedio de 3.5 en escala de 1-5 (Edmonson, Lean, Weaver, Farver, & Webster, 1989). Las vacas fueron aleatorizadas y asignadas a uno de dos tratamientos: T1) grupo testigo con una dieta completa; T2) tratamiento con dieta completa + 0.1% de la enzima. El peso vivo promedio inicial fue de 812 \pm 60 y 754 \pm 88 kg para el grupo testigo y el tratamiento con enzima, respectivamente.

Se utilizó la enzima β -mananasa, (CTCZYME, patente 100477456-0000; CTC Bio Inc., Seoul, South Korea), que contiene β -mananasa puro, en forma de polvo, no soluble en agua. La empresa fabricante recomienda su uso en una proporción de 0.1% (1 kg T⁻¹) de β -mananasa.

El diseño experimental fue un completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo, con 15 y 13 repeticiones para los tratamientos con y sin la adición de la enzima. La unidad experimental fue la vaca.

3.4.3 Manejo de las vacas

Para la realización del estudio, las vacas se alojaron en un corral exclusivo y tuvieron un periodo seco preparto (reto) de 17 ± 5 d más 60 d posparto, con una duración total aproximada de estudio de 78 d. Las fechas probables de parto de cada vaca se obtuvieron de la información generada por el Software Dairy Live® (versión 5.005B).

Los registros de peso vivo (PV) y condición corporal (CC) se tomaron cuando las vacas ingresaron al corral de estudio, al día del parto y posterior al parto en periodos quincenales. El PV se registró utilizando una báscula ganadera (RGI, Revuelta) de capacidad máxima de 2000 kg y graduación mínima de 0.5 kg. La CC se determinó por apreciación visual y palpación de la región lumbar, usando una escala de 1 a 5 unidades (1: emaciada, 2: delgada, 3-3.5: normal, 4: gorda, 5: obesa) con fracciones intermedias de 0.25 y 0.5 unidades, de acuerdo con la metodología propuesta por Edmonson et al. (1989).

3.4.4 Rutina de alimentación y medición del consumo

La alimentación de las vacas se manejó de acuerdo con los tratamientos en dos periodos: durante el periodo seco preparto, se proporcionó la dieta desde el ingreso de los animales al corral hasta el día del parto (21 d), y en un segundo momento, de un día después del parto hasta los 60 d posparto. Las vacas fueron alimentadas diariamente con una ración mixta total diseñada de acuerdo con las recomendaciones del NRC (2001), para cumplir los requisitos nutrimentales de vacas en periodo seco preparto y posparto (Cuadro 2). En cada dieta se usaron los mismos ingredientes durante todo el experimento. Las vacas fueron provistas de agua fresca *ad libitum* en todo el periodo experimental.

Durante el experimento, el alimento se preparó diariamente en un carro mezclador (Digi-Star, EZ3600) y se almacenó en un espacio exclusivo, para posteriormente ser pesado y ofrecido a los animales de manera individual en tres horarios: 6:00, 14:00 y 22:00 h. Las vacas fueron aseguradas en las trampas de los comederos, antes de ofrecer el alimento correspondiente a su etapa fisiológica y a su tratamiento, y liberadas cuando éstas terminaban de comer; entre cada trampa se colocó un separador metálico, cubierto con malla

de plástico para evitar que la comida de diferentes vacas se mezclara y así obtener la medición del consumo. De acuerdo con el tratamiento la enzima fue proporcionada durante el horario de las 6:00 h, mezclándola con 1 kg de la dieta para ofrecerla de forma individual a cada vaca.

Para la determinación del consumo, el alimento se pesó antes de ofrecerlo a la vaca, en una báscula digital colgante de capacidad 50 ± 0.02 kg. El alimento no consumido se colectó y se pesó en cada horario, para obtener por diferencia el consumo diario total. El cálculo del consumo de alimento por día fue la resta del alimento ofrecido menos el rechazado, para cada horario de alimentación y la suma de los consumos en los tres horarios fue el consumo de alimento total por vaca⁻¹ d⁻¹. Los registros obtenidos por cada vaca se agruparon y se promediaron por semana con la finalidad de ser reportados como consumo de materia seca vaca⁻¹ d⁻¹.

Todos los días a las 14:00 h se colectó una muestra de la dieta antes de ofrecerla a las vacas, la que fue secada en un horno de microondas para estimar la materia seca. El consumo de materia seca se calculó al multiplicar la materia seca de la muestra por el consumo de alimento del día. Para la composición química se tomó una muestra de la dieta ofrecida en el periodo pre y pos-parto, la cual se determinó por espectrofotometría de rayo cercano a infrarrojo (NIRS), (Cuadro 2).

Cuadro 2. Ingredientes y composición nutrimental en base seca de las dietas pre y pos-parto para vacas Holstein en condiciones de confinamiento.

Ingrediente (%)	Dieta preparto	Dieta posparto
Ensilado de maíz	49.3	27.81
Heno de alfalfa	20.8	5.03
Pasta de soya	5.49	12.78
Salvado de trigo	6.86	18.53
Maíz rolado	16.56	23.72
Semilla de algodón	-----	7.22
Melaza	-----	2.21
Minerales Reto ^z	0.76	-----
Vitaminas Reto ^y	0.23	-----
Lactomil ^x	-----	0.9
Intermin minerales ^w	-----	0.9
Buffer ^v	-----	0.9
Composición nutrimental^u		
Materia seca, %	46.47	60.08
Energía neta de lactancia, Mcal/ kg BS	1.70	1.80
Proteína cruda, %	13.17	14.12
Proteína no degradable, %	4.74	5.60
Proteína degradable, %	8.43	8.52
Extracto etéreo, %	3.31	5.41
Fibra cruda, %	21.59	19.97
Fibra detergente ácido, %	27.74	24.96
Fibra detergente neutro, %	46.5	41.34
Carbohidratos no estructurales %	28.51	32.34
Cenizas, %	8.5	6.79
Calcio, %	0.27	0.09
Magnesio, %	0.08	0.11
Fósforo, %	0.23	0.35
Potasio, %	1.51	1.12

^zMinerales (%): P,4; Ca,12; Mg, 0.40; Mn, 0.60; Fe, 0.40; Zn, 0.50; S, 0,80; Co, 0.001; I, 0.008; Se, 0.003; Na, 20; Cl, 25.

^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, vitamina E, vitamina D3, carbonato de cobalto, cloruro de sodio, fosfato monodivale, óxido de magnesio, óxido de zinc, selenito de sodio, sulfato de cobre, sulfato de hierro, sulfato de manganeso, yodo y/o minerales orgánicos.

^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)

3.4.5 Manejo de la ordeña y medición de la producción y contenido de leche

Las vacas fueron ordeñadas diariamente en dos ocasiones a la 1:00 y 13:00 h, en una sala de ordeño tipo paralelo de 18 plazas. La rutina de ordeño

incluyó el lavado de la ubre, un pre-sello (Virkon), despunte, ordeño y sellado en forma constante durante los 60 d de ordeño.

Producción de leche (PL): La PL se midió con pesadores de capacidad de 35 kg. La medición se realizó tres días a la semana (lunes, miércoles y sábado); se promediaron y se reportó como media de la producción de leche por vaca⁻¹ d⁻¹.

PL corregida al 4% de grasa (FCM): esta variable se calculó utilizando la ecuación propuesta por Gaines y Davidson (1923):

$$\text{FCM} = (0.4) (\text{kg de leche producida}) + (15) (\text{kg de grasa producida})$$

Contenido de sólidos totales, grasa, proteína, lactosa y conteo de células somáticas: semanalmente a cada vaca se le tomó una muestra de leche de 50 mL en viales de plástico previamente esterilizados, directamente del pesador en el ordeño de la 1:00 h; la muestra se identificó y se refrigeró a 4 °C para ser enviada al laboratorio el mismo día.

3.5. Análisis estadístico

Los datos se analizaron usando PROC MIXED del programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2013), considerando el siguiente modelo de medidas repetidas:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \pi_j + (\tau\pi)_{ij} + \varphi_{k(i)} + \beta_1 X_{ik} + \varepsilon_{ikl}$$

En el cual Y_{ijk} representa el valor de la variable respuesta en el animal k sujeta al tratamiento i en el periodo j ; τ_i es el efecto del tratamiento i ; π_j es el efecto de la semana j ; $(\tau\pi)_{ij}$ es el efecto de interacción de la semana j con el tratamiento i ; $\varphi_{k(i)}$ es el efecto del animal k en el tratamiento i ; X_{ik} es el peso inicial del animal k en el tratamiento i y β_1 es un coeficiente de regresión lineal asociado a esta covariable. Con respecto a los términos ε_{ikl} y $\varphi_{k(i)}$ se supone que son variables aleatorias no observables e independientes tales que

$$\varphi_{k(i)} \sim N(0, \sigma_A^2)$$

$$\varepsilon_{ikl} \sim N(0, \sigma^2)$$

con independencia entre cualquier par de variables.

Debido a que el efecto de covarianza fue significativo ($p < 0.05$), las respuestas observadas se ajustaron por el valor del peso vivo inicial del animal. Cuando

hubo efecto significativo de tratamiento, semana o la interacción tratamiento x semana ($p < 0.05$), la comparación de medias de cuadrados mínimos se realizó con el enunciado lsmeans y la opción PDIFF de PROC MIXED en SAS. La significancia entre pares de medias se consideró significativa cuando $p < 0.05$.

3.6. Resultados y discusión

3.6.1 Consumo de materia seca

La adición de enzima β -mananasa no afectó el CMS durante el parto y posparto ($p = 0.248$ y $p = 0.484$) de las vacas (Cuadro 3). Un comportamiento similar en CMS fue reportado en pollos de engorda (Kong, Lee, & Adeola, 2011), cerdos (Kim et al, 2013), cabras (Lee et al., 2014) y vaquillas en crecimiento (Seo et al., 2016); en este sentido, Tewoldebrhan et al. (2017) encontraron que la suplementación con β -mananasa en una concentración de 0.1% de MS, a vacas después del pico de producción (116 ± 19 d en leche), redujo el CMS en $1.8 \text{ kg vaca}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en comparación con el grupo testigo.

Estos resultados sugieren que el uso de la enzima β -mananasa muestra un comportamiento del CMS muy variable entre especies, lo que probablemente está asociado principalmente a la calidad del sustrato y etapa fisiológica del animal (Mendoza, Loera-Corral, Plata-Pérez, Hernández-García, & Ramírez-Mella, 2014).

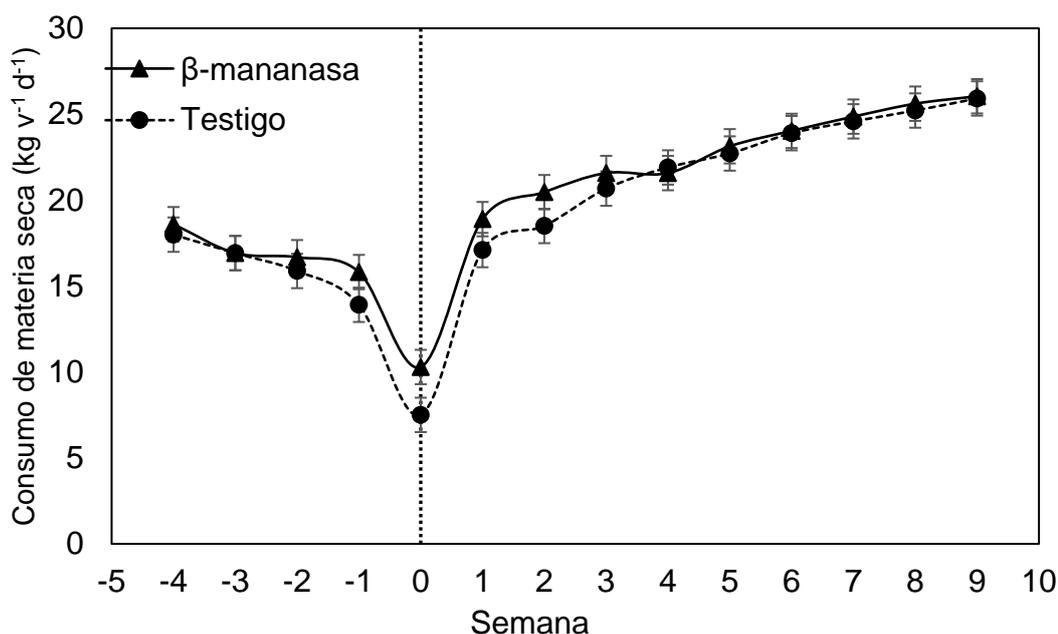
Cuadro 3. Consumo de materia seca (CMS) durante el parto y posparto por vacas que consumen 0 y 0.1% de la enzima β -mananasa.

CMS ($\text{kg vaca}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	Enzima		P ^z
	0%	0.1%	
Parto	14.44 \pm 0.72	15.66 \pm 0.70	0.248
Posparto	22.28 \pm 0.63	22.91 \pm 0.59	0.484

^z Nivel de significancia observado

En la Figura 5 se muestran las variaciones en el CMS de ambos periodos a través del tiempo desde la semana 4 parto hasta la semana 9 posparto; las variaciones se debieron a los efectos de la semana de lactancia. El CMS antes y después del parto, no mostró diferencias asociadas a la adición de β -mananasa. Durante las semanas previas al parto el CMS fue disminuyendo; después del parto, el CMS incrementó constantemente hasta 44% (17 a 26 kg) en la semana 9, comparado con la semana 1 (Figura 5).

El CMS para el periodo preparto y posparto está influenciado por la semana al parto mediante una relación cuadrática, logrando el mayor consumo en la semana 9 posparto (25.3 y 25.3 kg vaca⁻¹ d⁻¹ para vacas que consumieron β -mananasa, respecto al grupo control) y en la semana 4 preparto para ambos tratamientos. Las ecuaciones de regresión presentan coeficientes de determinación superiores al 89% para el periodo preparto y de 87% en el periodo posparto (Figura 5), los valores muestran alta precisión y confiabilidad.



Tratamiento	Periodo	Ecuación	R ²	P
Ctczyme	Preparto	$Y=10.71-4.47x-0.64x^2$	0.89	0.1050
Testigo	Preparto	$Y=8.43-5.44x-0.79x^2$	0.97	0.0262
Ctczyme	Posparto	$Y=13.03+3.25x-0.21x^2$	0.87	0.0007
Testigo	Posparto	$Y=10.55+3.98x-0.26x^2$	0.93	<0.0001

Figura 5. Consumo de materia seca de vacas en periodo seco preparto e inicio de la lactancia, alimentadas con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.

3.6.2 Producción de leche

La PL a partir de la semana 1 hasta la 9 posparto fue 11.5% mayor ($p=0.024$) en las vacas que se les adicionó β -mananasa (Cuadro 4); sin embargo, la PL ajustada al 4% de grasa no fue diferente entre tratamientos ($p=0.230$). Tewoldebrhan et al. (2017) encontraron que la producción de leche no fue afectada por la inclusión de β -mananasa en la dieta de vacas (34.4 y 34 kg vaca⁻¹ d⁻¹) durante el periodo después del pico de producción (116 \pm 19 d en leche). Los valores en este estudio sobre producción de leche (38.24 y 42.66

kg vaca⁻¹ d⁻¹) son superiores a los obtenidos Tewoldebrhan et al. (2017). De acuerdo con la literatura revisada, la investigación de Tewoldebrhan et al. (2017) es el primer trabajo que examina el efecto de β-mananasa en PL, considerándose el presente estudio como el segundo en vacas lecheras y el primero que analiza los efectos de la enzima en el periodo de transición.

De acuerdo con Kong et al. (2011), el efecto positivo de la suplementación con β-mananasa puede deberse que exista una mayor cantidad de energía disponible en la dieta, al degradar a los β-mananos por la acción de la enzima. La enzima anticipa una mejora en el metabolismo energético con un aumento en la digestión (Wu, Bryant, Voitle, & Roland, 2005). Sin embargo, Peters, Meyer y Dänicke (2015) utilizaron enzimas exógenas fibrolíticas que contienen celulosa y xilanasas en las dietas de las vacas, y concluyeron que estas enzimas no tienen efecto en la producción de leche

Cuadro 4. Producción de leche (PL) de vacas que consumen en la dieta 0 y 0.1% de la enzima β-mananasa.

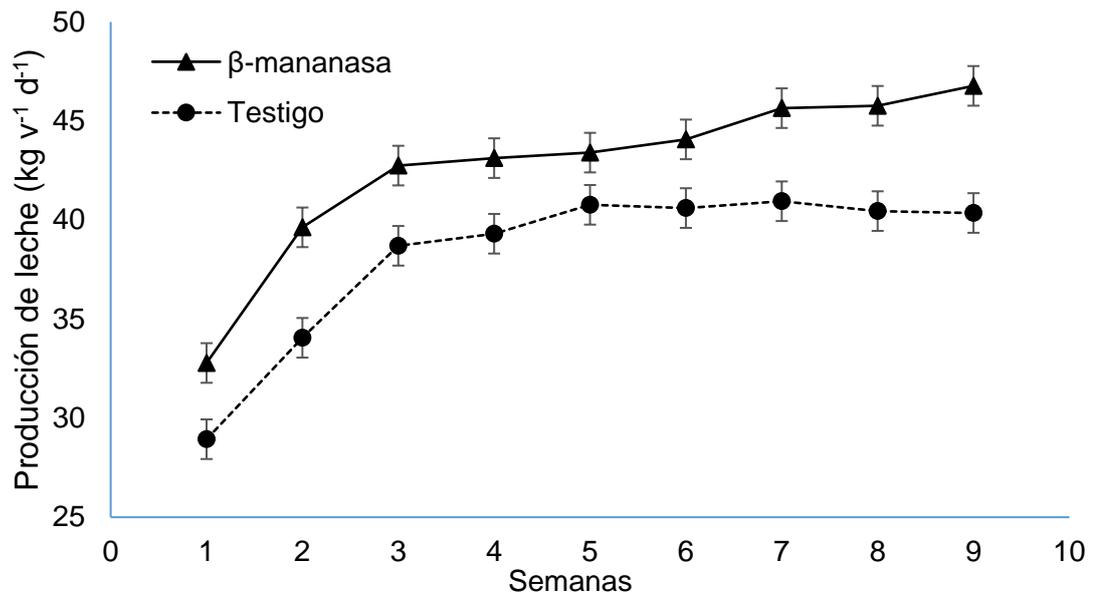
Producción de leche (kg vaca ⁻¹ d ⁻¹)	Enzima		P ^z
	0%	0.1%	
Producción de leche	38.24 ± 1.31	42.66 ± 1.21	0.024
Producción de leche ajustada	34.31 ± 1.12	36.30 ± 1.10	0.230

Producción de leche ajustada al 4% de grasa

^zNivel de significancia observado

En la Figura 6 se observa el patrón del comportamiento de la PL a través de las semanas de lactancia; la curva de PL mostró el mismo comportamiento desde la semana 1 hasta la 9, siendo superior con la adición de la enzima.

La PL está influenciada por la semana de la lactancia, mediante una ecuación logarítmica; la máxima PL fue en la semana 3 (40.9 y 36.6 kg vaca⁻¹ d⁻¹ para vacas que consumieron β-mananasa, respecto al grupo control) para ambos tratamientos, dado que a partir de este momento los incrementos en PL no se consideran significativos. Las ecuaciones de regresión presentan coeficientes de determinación superiores al 83% (Figura 5).



Tratamiento	Ecuación	R ²	P
Ctczyme	$y = 5.66\ln(x) + 34.73$	0.92	<0.0001
Testigo	$y = 5.19\ln(x) + 30.85$	0.83	0.0006

Figura 6. Producción de leche de vacas en inicio de la lactancia, con y sin enzima β-mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.

A pesar de que la producción de leche ajustada a 4% de grasa no fue diferente ($p=0.230$) entre tratamientos, se observó que en la semana 1, 2 y 3, las vacas consumiendo dieta con β-mananasa produjeron 3.6, 5.0 y 4.7 kg, respectivamente, más de leche ajustada, que el grupo control (Figura 7).

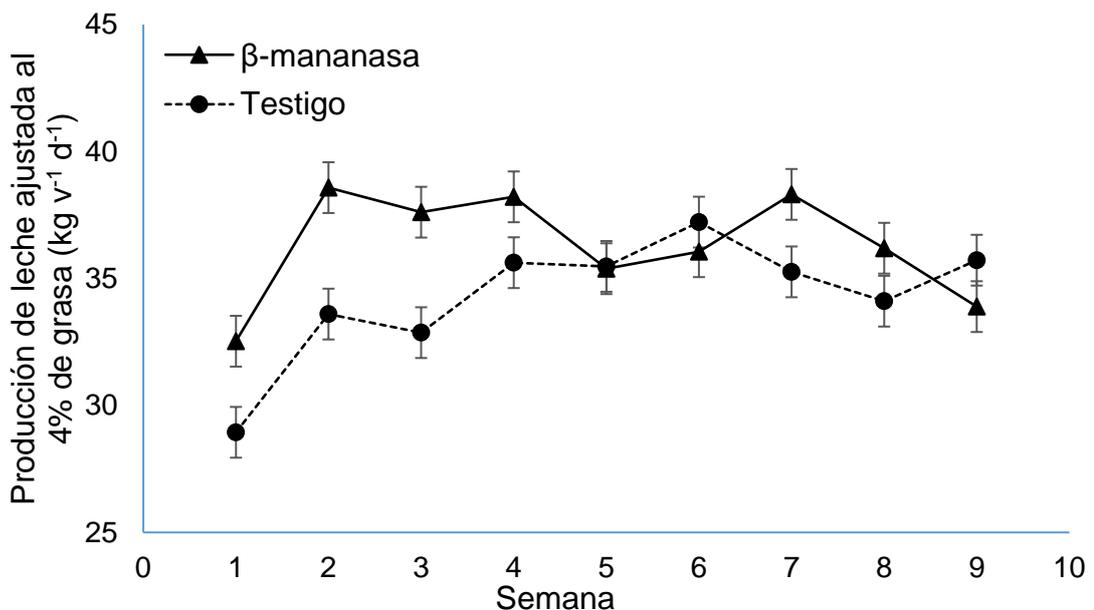


Figura 7. Producción de leche ajustada al 4% de grasa de vacas al inicio de la lactancia, con y sin enzima β-mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.

3.6.3 Composición de la leche y conteo de células somáticas

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de producción de grasa, y composición de la leche: sólidos totales, grasa, proteína, lactosa y urea. La adición de β -mananasa no modifica ($p>0.05$) la concentración de sólidos, grasa, proteína y urea en la leche; sin embargo, la lactosa tiende a ser mayor en las vacas que consumieron β -mananasa ($p=0.091$).

Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos (+ error estándar) de contenido de la leche y conteo de células somáticas de vacas que consumen 0 y 0.1% de la enzima β -mananasa en la dieta

Variable	Enzima		P ^z
	0%	0.1%	
PDGrasa (kg vaca ⁻¹ día ⁻¹)	1.25 ± 0.05	1.27 ± 0.05	0.813
Sólidos totales %	12.09 ± 0.17	11.89 ± 0.17	0.440
Sólidos no grasos %	8.73 ± 0.07	8.86 ± 0.07	0.262
Grasa %	3.34 ± 0.14	3.03 ± 0.14	0.130
Proteína %	3.14 ± 0.07	3.13 ± 0.07	0.865
Lactosa %	4.83 ± 0.05	4.96 ± 0.05	0.091
Urea, mg dL ⁻¹	6.35 ± 0.47	6.90 ± 0.49	0.444
CCS (Miles de células mL ⁻¹)	1112.6 ± 305.1	152.6 ± 294.1	0.036

PDGrasa: producción de grasa.

CCS: conteo de células somáticas

^zNivel de significancia observado

El CCS fue 86% menor ($p=0.036$) para vacas que recibieron en su dieta β -mananasa (Cuadro 5). Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Tewoldebrhan et al. (2017), quienes encontraron que en las vacas con dietas adicionadas con el 0.1% de la enzima β -mananasa el CCS disminuyó ($p=0.043$); los valores reportados por estos autores son 59 y 72 miles de células mL⁻¹ con y sin la adición de la enzima, respectivamente.

El CCS es el resultado de una respuesta inmune (Durr, Cue, Monardes, Moro-Mendez, & Wade, 2008) y es utilizado como un indicador de la salud mamaria, y refleja la presencia de una nula, baja o alta infección (Bradley & Green, 2005). Incluye 75% de leucocitos (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) que son producidos por el sistema inmune de la vaca para combatir la inflamación de la glándula mamaria, y 25% de células epiteliales; los leucocitos aumentan en

respuesta a infecciones bacterianas, lesiones tisulares y estrés (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011; Yu, Zhao, Tian, & Huo, 2011).

Cuando el CCS es menor de 100,000 células mL⁻¹ se considera normal y refleja una glándula mamaria sana (Bradley & Green, 2005), mientras que un CCS mayor que 200,000 células mL⁻¹ es usualmente considerado presencia de mastitis subclínica (Bradley & Green, 2005; Nyman, Emanuelson, & Waller, 2016).

Puesto que en la presente investigación el CCS disminuyó de 1'112 a 152 miles de células mL⁻¹, en vacas que consumieron en la dieta β -mananasa, indica que esta enzima induce que las vacas que se encuentran en un estado de mastitis subclínica o clínica, pasen a un estado razonablemente saludable, por lo que las pérdidas en producción de leche asociadas con el aumento de CCS en vacas lecheras sea menor (Hadrich, Wolf, Lombard, & Dolak, 2018).

La reducción en el CCS puede estar dada por una respuesta óptima del sistema inmune a la inflamación de la glándula mamaria, debido a los oligosacáridos de manosa liberados a través de la hidrólisis de β -mananos inducida por la enzima β -mananasa, ya que la hidrólisis de β -mananos puede tener una función en el control de la respuesta inmune (Tewoldebrhan et al., 2017).

Investigaciones que utilizaron β -mananasa de otras fuentes, demostraron las respuestas inmunes principalmente en no rumiantes. Jackson et al. (2003) establecieron que la suplementación con β -mananasa aumentó la ganancia diaria de peso y redujo el grado de las lesiones por coccidia en pollos infectados con *Eimeria sp.* y *Clostridium perfringens*. Por su parte, Zou, Qiao, y Xu (2006) informaron que la suplementación con β -mananasa aumentó la concentración de IgM en suero y la proliferación de linfocitos T en pollos de engorda y concluyeron que esta enzima puede mejorar la inmunidad de los pollos. Además, Franklin, Newman, Newman, y Meek, (2005) indicaron que la suplementación con oligosacáridos de manano (MOS) a vacas secas, resultó en una mayor respuesta a la inmunización contra el rotavirus y tendió a

aumentar la transferencia posterior de anticuerpos contra el rotavirus a los terneros.

Los β -mananos que atraviesan la mucosa intestinal son potentes estimuladores del sistema inmune innato, resultando en un aumento de la proliferación de macrófagos y monocitos (Jackson et al., 2003; Wu et al., 2005); la β -mananasa da como resultado una reducción del contenido de β -manano asociado con una reducción de la estimulación inmunitaria innata (Wu et al., 2005); una posible razón por la que la β -mananasa podría mejorar la inmunidad es que el β -manano se degrada a oligosacárido de manano.

El componente celular del sistema inmune innato identifica patógenos utilizando moléculas distintas. El sistema inmune innato es activado por patrones moleculares encontrados comúnmente en patógenos y por β -mananos; los β -mananos pueden ser reconocidos por la mucosa intestinal y considerados por el sistema inmune de la misma, como moléculas asociadas a agentes patógenos y activan defensas inmunitarias como la fagocitosis, la vía alternativa del complemento y la vía de las lectinas (Shashidhara & Devegowda, 2003). La β -mananasa hidroliza y degrada los β -mananos en moléculas más pequeñas de tal manera que ya no pueden ser reconocidas por el sistema inmune, por lo tanto, al prevenir la respuesta inmunitaria mediante el uso de la enzima, ayuda a conservar energía, que puede ser utilizada para otras funciones del organismo (Tewoldebrhan et al., 2017). Se necesitan más investigaciones para explicar los efectos positivos de la β -mananasa en la estimulación inmune innata.

En la Figura 8 se puede observar el patrón de comportamiento del CCS, a través de las semanas de lactancia. Respecto al tratamiento con la enzima β -mananasa no se presentan grandes variaciones, en comparación con el tratamiento sin la adición de la enzima. El CCS son indicadores generales de la salud de la ubre que están sujetos a la influencia de muchos factores como:

estado de la infección, número de cuartos infectados, edad, estado de lactación, época, estrés y manejo (Dohoo & Meek, 1982).

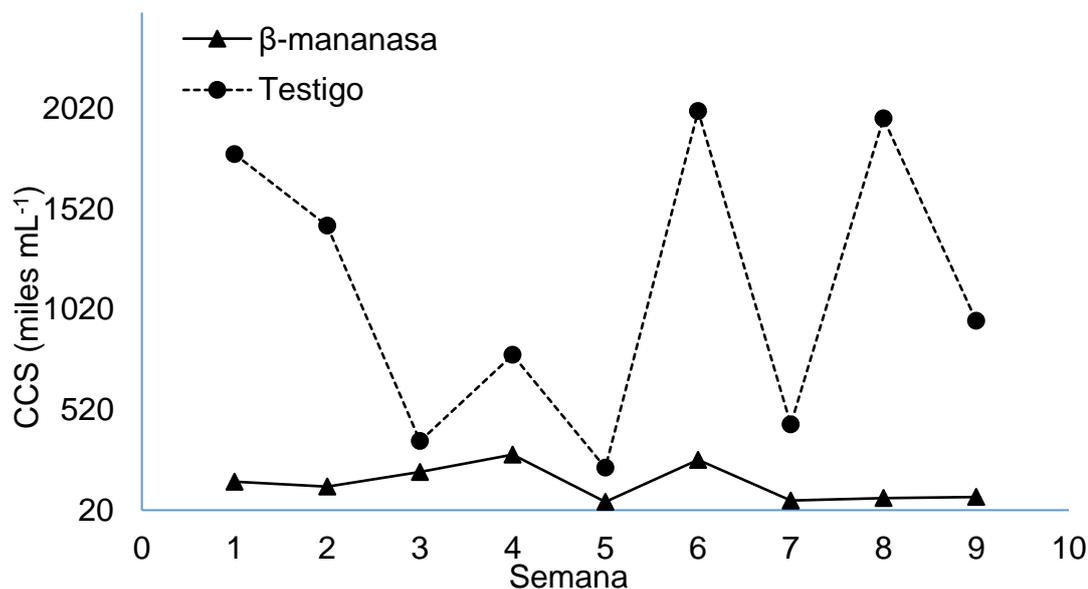


Figura 8. Conteo de células somáticas en leche de vacas en inicio de la lactancia, con y sin enzima β -mananasa (Ctczyme) adicionada a la dieta.

3.7. Conclusiones

El consumo de materia seca, la producción de leche corregida al 4% de grasa y contenido de la leche de vacas en periodo seco preparto e inicio de lactancia no son afectadas por la adición de la enzima β -mananasa en la dieta. La suplementación de la β -mananasa incrementa la producción de leche y disminuye el conteo de células somáticas en la leche.

3.8. Literatura citada

- Bradley, A., & 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.
- Daskiran, M., Teeter, R. G., Fodge, D., & Hsiao, H. Y. (2004). An evaluation of endo- β -D-mannanase (Hemicell) effects on broiler performance and energy use in diets varying in β -mannan content. *Poultry Science*, 83, 662-668, doi:10.1093/ps/83.4.662.
- Dohoo, I. R., & Meek, A. H. (1982). Somatic cell counts in bovine milk. *The Canadian Veterinary Journal*, 23(4), 119.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82 (11), 2259–2273, doi: doi:10.3168/jds.s0022-0302(99)75474-3.

- Durr, J. W., Cue, R. I., Monardes, H. G., Moro-Mendez, J., & 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., & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78, doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0.
- Franklin, S. T., Newman, M. C., Newman, K. E., & Meek, K. I. (2005). Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *Journal of Dairy Science*, 88(2), 766-775, doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72740-5.
- Gaines, W. L., & Davidson, F. A. (1923). Relation between percentage fat content and yield of milk. *Agricultural Experiment Station, Bulletin 245*. University of Illinois. USA. p. 594.
- 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. Acceso en marzo de 2018.
- Hadrich, J. C., Wolf, C. A., Lombard, J., & Dolak, T. M. (2018). Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3588-3596. doi:10.3168/jds.2017-13840.
- Jackson, M. E., Anderson, D. M., Hsiao, H. Y., Mathis G. F., & Fodge D. W. (2003). Beneficial effect of b-mannanase feed enzyme on performance of chicks challenged with *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens*. *Avian Diseases*, 47(3), 759-763, doi: <http://dx.doi.org/10.1637/7024>.
- Jackson, M. E., Geronian, K., Knox, A., McNab, J., & McCartney, E. (2004). A dose-response study with the feed enzyme beta-mannanase in broilers provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters. *Poultry Science*, 83 (12), 1992-1996, doi: 10.1093/ps/83.12.1992.
- Kim, J. S., Ingale, S. L., Hosseindoust, A. R., Lee, S. H., Lee, J. H., & Chae, B. J. (2017). Effects of mannan level and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites of growing pigs. *Animal*, 11(2), 202-208, doi:10.1017/s1751731116001385.
- Kim, J. S., Ingale, S. L., Lee, S. H., Kim, K. H., Lee, J. H., & Chae, B. J. (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, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.08.008>.

- Kong, C., Lee, J. H., & 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., & 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, <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.08.018>.
- Mendoza, G. D., Loera-Corral, O., Plata-Perez, F. X., Hernandez-Garcia, P. A., & Ramirez-Mella M. (2014). Considerations on the use of exogenous fibrolytic enzymes to improve forage utilization. *The Scientific World Journal*, 2014 (247437), 1-9, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/247437>.
- Mok, C. H., Lee, J. H., & 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., & 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.
- Mussini F. J., Coto, C. A., Goodgame, S. D., Lu, C., Karimi, A. J., Lee, J. H., & Waldroup, P. W. (2011). Effect of β -Mannanase on Broiler Performance and Dry Matter Output Using Corn-Soybean Meal Based Diets. *International Journal of Poultry Science*, 10 (10), 778-781, doi: 10.3923/ijps.2011.778.781.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. National Academies Press, Washington, DC.
- Nyman, A. K., Emanuelson, U., & 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.
- Peters, A., Meyer, U., & 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, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2015.09.001>.
- Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, G. D., Montañez-Valdez, O. D., Rebollar-Rebollar, S., Cardoso-Jiménez, D., Hernández-Martínez, J., y González-Razo, F. J. (2007). Enzimas amilolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes. *Universidad y Ciencia*, 23 (2), 173-182.
- SAS Institute Inc. (2013). SAS/STAT 9.3 User's Guide. SAS Institute. Cary, N. C. USA. 5180 p.

- Schingoethe, D. J., Stegeman, G. A., & Treacher, R. J. (1999). Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 996-1003, doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75319-1.
- Seo, J., Park, J., Lee, J., Lee, J. H., Lee, J. J., Kam, D. K., & 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.
- Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429-43, doi:10.5713/ajas.2011.10233.
- Shashidhara, R. G., & Devegowda, G. (2003). Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. *Poultry science*, 82(8), 1319-1325, doi:10.1093/ps/82.8.1319.
- Sistema Meteorológico Nacional (SMN). (2016). Disponible: <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>.
- Tewoldebrhan, T. A., Appuhamy, J., Lee, J. J., Niu, M., Seo, S., Jeong, S., & 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.
- Wu, G., Bryant, M. M., Voitle, R. A., & 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.
- Yu, A. B., Zhao, G. Q., Tian, S. Q., & Huo, Y. J. (2011). Relationship Between Parity and Cellular Composition of Somatic Cells in Milk of Chinese Holstein Cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(16), 2067-2073, doi: 10.3923/javaa.2011.2067.2073.
- Zou, X. T., Qiao, X. J., & Xu, Z. R. (2006). Effect of β -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. *Poultry science*, 85(12), 2176-2179, doi: doi:10.1093/ps/85.12.2176.