

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA  
CAMPUS TECNOLÓGICO LOCAL SAN CARLOS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**Influencia de la incorporación de hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* en la producción de leche en el trópico húmedo de Costa Rica**

Trabajo Final de Graduación presentado como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

**DIEGO ARTURO MORA VARGAS**

**SANTA CLARA, FLORENCIA, SAN CARLOS 2024**

**DERECHOS RESERVADOS © 2024 DIEGO ARTURO MORA VARGAS**

**INFLUENCIA DE LA INCORPORACIÓN DE HEMICELULASAS Y ESPORAS DE  
ASPERGILLUS ORYZAE EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN EL TRÓPICO  
HÚMEDO DE COSTA RICA**

**DIEGO ARTURO MORA VARGAS**

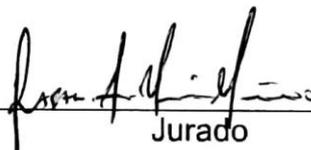
**Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:**

Ing Agr. Mauricio Barrantes Jiménez, Lic.



Asesor principal

DMV. Rafael A. Molina Montero, M.Sc.



Jurado

Ing.Agr. Vinicio Barquero Ramírez, Lic.

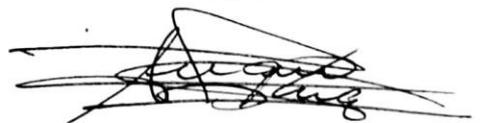


Firmado digitalmente por ALVARO  
VINICIO BARQUERO RAMIREZ (FIRMA)  
Motivo: Estoy aprobando este documento  
Ubicación: Cartago, Costa Rica

Fecha: 2024.06.17 13:15:59 -0600

Jurado

Ing.Agr. Sergio Torres Portuguez, M.Sc



Director

Escuela de Agronomía

**2024**

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero comenzar expresando mi profundo agradecimiento a Dios por brindarme salud y fuerzas para completar este viaje de mi licenciatura. Su guía y protección fueron fundamentales en cada paso del camino. Agradezco infinitamente a mi familia y mi querida novia por su apoyo incondicional a lo largo de mi etapa universitaria. Su amor, comprensión y aliento fueron mi mayor fortaleza en los momentos más desafiantes. Además, quiero reconocer y agradecer a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron a mi desarrollo profesional. Sus consejos, enseñanzas y apoyo fueron invaluable para mi crecimiento académico y personal.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

Agradecimiento.....	i
Índice de contenido.....	ii
Índice de cuadros .....	iii
Índice de figuras .....	iv
Resumen .....	v
1. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivo general .....	3
1.3.1. Objetivos específicos .....	3
2. Revisión de literatura.....	4
2.1. Ganadería lechera en Costa Rica .....	4
2.2. Calidad de leche .....	5
2.3. Sanidad animal .....	6
2.4. Producción láctea.....	7
3. Materiales y métodos .....	8
3.1. Ubicación del sistema productivo .....	8
3.2. Animales y material experimental .....	8
3.3. Manejo de los animales y alimentación.....	8
3.4. Parámetros productivos .....	9
3.5. Sanidad animal .....	10
3.6. Análisis estadístico.....	10
4. Resultados y discusión.....	11
5. Conclusiones y recomendaciones.....	19
6. Referencias bibliográficas .....	20

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1.	Composición nutricional de los forrajes (35 días / 25 días) y del ensilaje (45 días) en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	9
2.	Comparación de parámetros productivos (media $\pm$ desviación estándar) entre el grupo control y Rumino-Zyme® en ganado lechero en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	12
3.	Evaluación de la condición corporal (media $\pm$ desviación estándar) en vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	14
4.	Porcentaje de sólidos totales (media $\pm$ desviación estándar) en leche de vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	16
5.	Análisis económico del uso del suplemento Rumino-Zyme® en ganado lechero en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	17

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1.	Producción de leche diaria en vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.	13

## RESUMEN

En este estudio, se investigaron los efectos de un probiótico con acción enzimática (Rumino-Zyme®), con alta actividad de xilanasas, sobre la producción de leche y la puntuación de condición corporal en vacas lecheras. La aplicación del probiótico enzimático fibrolítico, a una dosis de 20 g/día por animal, resultó en un aumento promedio de 1,6 kg en la producción de leche por vaca, observado alrededor de los 15 días posteriores a la aplicación. La suplementación con esta enzima fibrolítica exógena tiene la capacidad de mejorar la degradación de la fibra, estimular el crecimiento de bacterias que consumen ácido láctico y, por ende, aumentar el pH ruminal. Como resultado de un metabolismo energético más equilibrado, se observó una ligera disminución en la pérdida de peso de las vacas tratadas durante el período productivo.

**Palabras Claves:** Aditivo, producción, metabolismo y fibra.

## ABSTRACT

In this study, the effects of a probiotic with enzymatic action (Rumino-Zyme®), with high xylanase activity, on milk production and body condition score in dairy cows were investigated. The application of the fibrolitic enzymatic probiotic, at a dose of 20 g/day per animal, resulted in an average increase of 1.6 kg in milk production per cow, observed around 15 days after application. Supplementation with this exogenous fibrolitic enzyme has the capacity to improve fiber degradation, stimulate the growth of lactic acid-consuming bacteria, and consequently increase ruminal pH. As a result of a more balanced energy metabolism, a slight decrease in weight loss was observed in the treated cows during the productive period.

**Keywords:** Additive, production, metabolism, and fiber.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Antecedentes

En la actualidad, la producción de leche es un componente esencial de la industria agrícola y ganadera, desempeñando un papel crítico en la economía y la seguridad alimentaria a nivel global. La demanda de productos lácteos de alta calidad sigue creciendo, impulsada por el aumento en la población y el cambio en las preferencias del consumidor (Brenes, Vargas, & Abarca, 2013). Para satisfacer esta creciente demanda, los productores de leche se enfrentan al desafío de aumentar la eficiencia de producción sin comprometer la calidad del producto final. Uno de los enfoques prometedores para mejorar la producción de leche es la optimización de la alimentación de las vacas en condiciones pastoriles con suplementación (Gutiérrez León et al., 2019).

La alimentación mediante un sistema rotacional de pastoreo es una práctica común en muchas regiones, ya que permite a los productores aprovechar los recursos naturales y reducir los costos de alimentación (Pérez, 2017). Sin embargo, puede haber limitaciones en la disponibilidad y calidad de los recursos forrajeros, lo que puede afectar la producción de leche. Para abordar este desafío, se ha investigado el uso de suplementos alimenticios que incluyen aditivos como enzimas y microorganismos benéficos, que pueden mejorar la digestibilidad de la dieta de las vacas y, por lo tanto, aumentar la productividad (Phakachod et al., 2013).

Según Bata et al., (2002), las enzimas como las hemicelulasas descomponen los componentes de la pared celular de las plantas, como la hemicelulosa, lo que mejora la degradación de los nutrientes en el rumen de las vacas. Por otro lado, un microorganismo que potencia la digestibilidad es el hongo *Aspergillus oryzae*, el cual es utilizado en la fermentación de alimentos y forraje, y se ha observado que mejora la digestibilidad de la dieta y la salud del sistema digestivo de los rumiantes (Sallam et al., 2019).

El presente estudio se enfoca en evaluar el efecto de la adición de hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* en la producción de leche de vacas alimentadas en condiciones pastoriles con suplementación. La hipótesis subyacente es que estos aditivos pueden mejorar la eficiencia de conversión de alimento a leche,

augmentar la producción de leche y mejorar la salud digestiva de las vacas, lo que tendría un impacto positivo tanto en los productores como en los consumidores.

Este trabajo se sumerge en un tema de gran relevancia para la producción lechera y busca proporcionar una contribución valiosa al conocimiento existente en este campo. A través de la evaluación de estos aditivos, se pretende identificar oportunidades para mejorar la sostenibilidad y la rentabilidad de la producción de leche en sistemas pastoriles con suplementación.

## **1.2. Justificación**

En Costa Rica, la producción lechera desempeña un papel crucial en la economía y la sociedad del país. Desde una perspectiva económica, la industria lechera es uno de los pilares de la industria agropecuaria costarricense, generando empleo en todo el país, desde pequeñas explotaciones familiares hasta grandes empresas. La venta de leche y sus derivados contribuye de manera significativa a los ingresos nacionales, fomentando la estabilidad financiera tanto en zonas rurales como urbanas. Como Choco (2019) señala, la producción lechera impulsa una cadena de valor que involucra a diversos sectores, como la alimentación animal, la industria láctea y la distribución de productos lácteos, lo que fortalece la economía en su conjunto.

Los resultados de esta investigación podrían llevar a mejoras significativas en la eficiencia y la sostenibilidad de la producción de leche. La producción de leche y la calidad de la misma son aspectos críticos en la industria lechera, conocer como las hemicelulasas y las esporas de *Aspergillus oryzae* influyen en la producción de leche y en la concentración de sólidos totales es esencial para mejorar la calidad y el valor nutricional del producto final.

Además de su efecto en la digestibilidad ruminal, la utilización de este aditivo puede incidir en la condición corporal de las vacas, lo que podría tener repercusiones significativas en su longevidad y rendimiento productivo. La condición corporal de los bovinos se erige como un indicador crucial de su estado de salud y bienestar (Castro Alvarez et al., 2018); un impacto positivo de las hemicelulasas y las esporas de *Aspergillus oryzae* en este aspecto podría traducirse directamente en mejoras tanto en la salud como en la productividad del ganado.

Esta investigación se alinea con la necesidad de comprender el impacto de las adiciones de hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* en la producción lechera, la calidad de la leche y la salud de las vacas en un sistema pastoril con suplementación; evaluar el efecto de la adición de estos suplementos es fundamental para comprender como estas enzimas y microorganismos pueden optimizar la producción lechera.

### **1.3. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la adición de hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* en la producción de leche de vacas alimentadas en condiciones pastoriles con suplementación.

#### **1.3.1. Objetivos específicos**

Determinar el impacto de las hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* sobre la producción láctea y la composición de la leche.

Medir el efecto de las hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae* sobre la condición corporal de las vacas.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Ganadería lechera en Costa Rica

La ganadería de leche en Costa Rica es una parte fundamental del sector agropecuario del país, destacándose por su enfoque en la producción de leche de alta calidad. El ganado lechero predominante en Costa Rica es de las razas Jersey y Holstein, conocidas por su alta producción de leche y su adaptabilidad a las condiciones tropicales (Vargas Leitón, & Gamboa Zeledón, 2008). Los productores deben emplear suplementación porque las pasturas en Costa Rica son de media a baja calidad, otro punto a tomar en cuenta es el control meticuloso de la salud del hato para optimizar la productividad.

De acuerdo con Sánchez, Piedra y Soto (1998), los forrajes suministrados al ganado lechero en la zona norte cumplen con los requerimientos mínimos de nutrición para satisfacer sus necesidades; no obstante, es importante destacar que las variables de materia seca, fibra detergente neutro y carbohidratos no fibrosos están influenciadas en cierta medida por las condiciones climáticas. El uso de enzimas se presenta como una opción viable para aumentar la digestibilidad de las pasturas; esto resulta particularmente beneficioso para pasturas cuya estructura vegetal no es la óptima y cuyas características varían significativamente a lo largo de las estaciones en la zona. Además, algunas prácticas de manejo llevadas a cabo por ciertos productores pueden reducir la disponibilidad de pasturas de calidad, por lo que resulta necesario recurrir a tecnologías que optimicen su producción.

El sistema de producción de leche en Costa Rica se caracteriza por una integración vertical, donde muchas fincas también procesan y distribuyen sus productos lácteos; esto permite un mayor control sobre la calidad y el valor agregado de la leche (Brenes, Vargas, & Abarca, 2013). Además, el país ha implementado prácticas de sostenibilidad, como la gestión eficiente de los recursos naturales y la promoción de razas resistentes al estrés calórico, lo que es esencial en un entorno tropical.

La genética y la mejora de razas, junto con la tecnología de ordeño, son áreas en constante evolución en la ganadería de leche costarricense. Según Pérez (2017), el país promueve la inversión en equipos modernos y técnicas de reproducción avanzadas para incrementar la eficiencia y la producción lechera.

## 2.2. Calidad de leche

La calidad de la leche se determina en gran medida por su composición química y física, los parámetros clave incluyen la grasa, proteína, lactosa y contenido de sólidos no grasos (SNG) (Calderón, García, & Martínez, 2006). La grasa, por ejemplo, afecta la textura y el sabor de los productos lácteos, mientras que el contenido de proteína es esencial para la fabricación de quesos y otros derivados lácteos; la medición precisa de estos componentes es fundamental para garantizar la calidad de la leche.

Calderón (2002) señala que la presencia de contaminantes en la leche, como antibióticos, pesticidas y bacterias patógenas, puede tener un impacto significativo en la calidad y la seguridad del producto final. La microbiología desempeña un papel esencial en la determinación de la calidad, ya que las bacterias lácticas beneficiosas son fundamentales para la fermentación en la producción de productos lácteos, mientras que la presencia de bacterias indeseables puede deteriorar la calidad (Mera Andrade et al., 2017).

La implementación estratégica de enzimas digestivas en la alimentación del ganado bovino lechero puede contribuir de manera significativa a la reducción del uso de antibióticos. Estas enzimas, al mejorar la eficiencia de la digestión y la absorción de nutrientes en el sistema gastrointestinal del ganado, promueven una salud intestinal óptima; a su vez, fortalece el sistema inmunológico de los animales y disminuye la incidencia de trastornos gastrointestinales (Gomez-Alarcon, Dudas, & Huber, 1990). La minimización de enfermedades relacionadas con el tracto digestivo reduce la necesidad de administrar antibióticos como medida terapéutica.

Un estudio realizado en México con 50 unidades experimentales y 50 unidades de control reveló un aumento del 0.99% en la grasa de la leche en el grupo que recibió la enzima polisacárida a base del hongo *Thermomyces lanuginosus* (Brydl et al., 2003). Estos resultados subrayan la importancia de asignar recursos adicionales a la investigación de enzimas que mejoren la digestibilidad, ya que esto podría tener un impacto significativo en la productividad de las explotaciones lecheras.

En este sentido, es importante destacar que la calidad de la leche también es objeto de estrecha vigilancia a lo largo de la cadena de suministro, desde la lechería hasta la planta procesadora y el consumidor final. Los sistemas de control de calidad

y trazabilidad permiten el seguimiento de cada lote de leche, garantizando que cumple con los estándares establecidos; esto incluye pruebas de laboratorio para verificar la composición y la presencia de contaminantes, así como la implementación de buenas prácticas de higiene y manejo para minimizar riesgos microbiológicos (De la Cruz, Simbaña, & Bonifaz, 2018).

### **2.3. Sanidad animal**

La condición corporal (CC) en bovinos de leche es un indicador crítico de su salud y rendimiento productivo. En ganado de leche se evalúa típicamente en una escala de 1 a 5, donde 1 representa una condición corporal extremadamente delgada y 5 indica una obesidad severa; mantener una condición corporal adecuada es esencial, ya que influye en la eficiencia reproductiva, la producción de leche y la resistencia a enfermedades. Saborío Montero y Sánchez (2014) fundamentan que las vacas en una condición corporal baja pueden experimentar problemas reproductivos, como anestro y disminución de la tasa de concepción, debido a una movilización excesiva de reservas de grasa para mantener la producción de leche; por otro lado, las vacas con una condición corporal alta pueden enfrentar problemas de salud, como la cetosis, debido a la acumulación de grasa en el hígado.

Los forrajes y los alimentos balanceados para bovinos representan fuentes fundamentales de energía para estos animales, por lo que su eficiente utilización a nivel digestivo es crucial para mantener una adecuada salud fisiológica. Según un estudio realizado por Esposito et al., (2013), una ingesta insuficiente de energía puede desencadenar desequilibrios fisiológicos en el ganado, predisponiéndolos a trastornos como la cetosis. Por lo tanto, el aprovechamiento óptimo de los alimentos a nivel ruminal e intestinal puede reducir el riesgo de desarrollar cetosis al aumentar la eficiencia en la utilización de la energía. Se ha demostrado que el hongo *A. oryzae* mejora la digestibilidad de las fracciones de fibra en el rumen como en el tracto intestinal, por lo tanto, se logra un mayor aprovechamiento en general de los nutrientes proporcionados por el forraje (Gómez-Alarcón et al., 1990).

Por lo tanto, la gestión cuidadosa de la nutrición es esencial para lograr y mantener una condición corporal adecuada, lo que a su vez contribuye a una producción de leche eficiente y a la salud general del rebaño.

## 2.4. Producción láctea

La producción láctea en bovinos es un proceso multifacético que involucra la recolección y procesamiento de leche cruda para la obtención de productos lácteos. Un componente crítico de este proceso es la estimulación y manejo de la producción de leche en el ganado, la lactación se rige por una serie de factores fisiológicos, incluyendo la hormona prolactina y la oxitocina, estas están influenciadas por la nutrición, el manejo del ordeño, la salud de las ubres y el bienestar animal (Yang & Beauchemin, 2007). De acuerdo con García et al., (2011), la maximización de la producción láctea requiere la adopción de estrategias de alimentación que logren un equilibrio entre la ingesta de energía, proteínas y minerales para satisfacer las demandas de la producción láctea, al mismo tiempo que se mantienen condiciones adecuadas de salud en el ganado.

Brydl et al., (2003) llevaron a cabo un ensayo en México en el cual observaron un incremento en la producción de leche que varió entre 0,49 y 3,43 litros por vaca al día en el grupo que recibió la enzima polisacárida a base del hongo *Thermomyces lanuginosus*; este aumento se debe a que las enzimas descomponen las estructuras de fibra, haciendo que los nutrientes sean más accesibles para el ganado. Este estudio subraya la importancia de llevar a cabo más investigaciones sobre las enzimas digestivas, ya que pueden tener un impacto positivo en la producción y, en consecuencia, en la rentabilidad de la industria lechera.

La producción láctea en bovinos implica una combinación de manejo animal, nutrición, sanidad y control de calidad para garantizar la obtención de leche inocua y de alto valor nutricional. En consecuencia, la implementación de estrategias de alimentación que mejoren la digestibilidad y la producción de leche resulta crucial para asegurar la rentabilidad del sector lácteo.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del sistema productivo**

El experimento se llevó a cabo en la lechería de la Finca La Esmeralda del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Campus Tecnológico Local San Carlos, Costa Rica, en las coordenadas CRTM05 X: 1113390.479 Y: -10048462.673. La temperatura promedio anual es de 26 °C y los rangos oscilan entre los 24-32 °C, la humedad relativa en época seca ronda el 75% y en la época lluviosa alcanza hasta el 90%, las instalaciones se encuentran aproximadamente a 170 m.s.n.m.

#### **3.2. Animales y material experimental**

El estudio estaba compuesto por 20 vacas mestizas de las razas Jersey, Gyr, Holstein, Pardo Suizo, Brahman y Simmental, en etapa productiva, con una media de  $4,70 \pm 2,39$  lactancias,  $83,30 \pm 65,67$  días de lactancia al inicio del experimento y una producción promedio de  $14,62 \pm 4,77$  kg de leche. Estas vacas fueron asignadas a dos grupos: tratamiento (vacas alimentadas con Rumino-Zyme®) y control. Ambos grupos recibieron una dieta que consistía en pastoreo, suplementación con silo de maíz, alimento balanceado comercial con 16% de proteína cruda y citrocom (pulpa y cáscara de naranja). El suministro del alimento comercial en el grupo control y en el grupo Rumino-Zyme se basaba en su nivel de producción, en una relación de 2,5:1, con un kilogramo adicional de citrocom por animal. En cuanto al silo de maíz, cada vaca consumía en promedio 12 kilogramos diarios. Además, al grupo tratamiento se le añadieron 20 gramos por vaca por día de un producto comercial (Rumino-Zyme®) basado en hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae*.

#### **3.3. Manejo de los animales y alimentación**

Para la identificación de los animales que formaban parte del grupo tratamiento y del grupo control, se les colocaron cintas identificadoras de diferente color en el cuello. Los rumiantes del grupo tratamiento fueron distinguidos con cintas de color verde, mientras que los del grupo control fueron identificados con cintas de color rojo.

En cuanto a la alimentación, el ganado bovino permaneció en las instalaciones de la lechería durante aproximadamente 6 horas semiestabuladas, durante las cuales se destinaron al consumo de silo de maíz, alimento comercial balanceado, citrocom y las labores de ordeño. Posteriormente, ambos grupos fueron llevados al mismo

repasto, correspondiente según el día, donde pasaban alrededor de 18 horas pastoreando. Tanto las instalaciones como los repastos contaban con acceso a agua potable *ad libitum*.

Cuadro 1: Composición nutricional de los forrajes (35 días / 25 días) y del ensilaje (45 días) en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

Composición	<i>Brachiaria brizantha</i> cv.	<i>Paspalum</i>	Ensilaje de
	TOLEDO	<i>fasciculatum</i> Willd	maíz
Materia seca (%)	20,00	18,20	22,60
Cenizas (%)	13,20	10,60	5,70
Extracto etéreo (%)	2,10	2,40	1,90
Fibra ácido detergente (%)	42,30	41,20	45,50
Fibra neutro detergente (%)	69,50	68,90	65,20
Lignina (%)	6,30	6,60	9,20
Proteína cruda (%)	14,40	14,90	10,50
pH	-	-	4,20

**Fuente:** Laboratorio bromatológico, Cooperativa Productores de Leche Dos Pinos R.L., Alajuela, Costa Rica.

### 3.4. Parámetros productivos

La pesa de leche se realizó diariamente de manera individualizada, utilizando un medidor de leche marca WAIKATO (Waikato Milking Systems, Hamilton, Nueva Zelanda) que se situaba entre el tubo de leche de cada puesto y la tubería de leche; este equipo tenía una cámara calibrada donde almacenaba una cantidad proporcional de la leche ordeñada y de esta forma determinaba el total de leche producida por vaca, dicha cámara posee una capacidad de 31 kilogramos. Para el análisis de sólidos totales en leche, las muestras se tomaron con un intervalo de 15 días, las cuales eran recolectadas durante los dos ordeños que se realizaban diariamente, y posteriormente eran enviadas al Laboratorio de Calidad de la Leche, Cooperativa Productores de Leche Dos Pinos R.L., Alajuela, Costa Rica.

Para el análisis de los datos se realizaba un promedio acorde a las cifras obtenidas por ordeño. Para la evaluación de este parámetro productivo se utilizaba espectrofotometría CombiFoss™ 7 (FOOS, Hilleroed, Dinamarca), el cual integraba las funcionalidades del MilkoScan™ RM y FosSomatic™ 7/DC.

### **3.5. Sanidad animal**

Se realizaron evaluaciones cada 15 días de la variable condición corporal, dicha medición se estimó utilizando una escala visual desarrollada por la Universidad de Arkansas, que clasifica la condición corporal del animal de 1 a 5.

### **3.6. Análisis estadístico**

Se recopilaron los datos de producción de leche, sólidos totales en leche y condición corporal de las vacas en una base de datos. Se realizaron pruebas de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilk, y de homogeneidad de varianza con el test de Levene, para verificar si los datos cumplían con los supuestos estadísticos necesarios para el ANOVA y otras pruebas.

Posteriormente, se llevó a cabo una prueba de Mann-Whitney U para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Esta prueba se utilizó debido a que algunas variables podrían no haber cumplido con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza requeridos para el ANOVA.

Los resultados se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (DE), y las diferencias estadísticas se considerarán significativas cuando  $p < 0,05$ . Todos los datos fueron analizados utilizando el entorno de programación R-Studio versión 4.3.2 para Windows (RStudio, PBC, Boston, Massachusetts, Estados Unidos).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La medición diaria de kilogramos de leche producidos por animal, así como las evaluaciones quincenales de la condición corporal y el análisis de calidad de leche, fueron resumidas mediante medias  $\pm$  desviación estándar con fines estadísticos (Cuadro 2). Para las evaluaciones de condición corporal y el análisis de calidad de la leche, no se observó un efecto general del tratamiento ( $p > 0,05$ ), ya que los datos obtenidos no apoyan la hipótesis alterna esto al no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo suplementado (Cuadro 2).

Los resultados previamente expuestos sobre la variable de calidad de leche están en consonancia con los hallazgos reportados por Higginbotham, Bath & Butler (1993); estos autores encontraron que, si bien los promedios de las variables relacionadas con la calidad de la leche eran ligeramente superiores en el grupo tratado con *Aspergillus oryzae* en comparación con el grupo control, la diferencia no alcanzaba niveles estadísticamente significativos. De manera similar, Bertrand & Grimes (1997) encontraron que la composición de la leche no se vio influenciada por la adición a la alimentación de 28 vacas Holstein de un fermento de *A. oryzae* y cebo.

Estudios previos obtuvieron resultados similares respecto a la variable de rendimiento corporal. Vázquez, Rodríguez & Ortiz (2021) evaluaron el efecto de suplementar terneras Jersey y Holstein con productos fermentados de *A. oryzae* y *A. niger*, además de enzimas digestivas, sobre la salud, altura de la cruz y aumento de peso. Sin embargo, no se observaron mejoras significativas en ninguna de las variables antes mencionadas. Un estudio llevado a cabo en Estados Unidos evaluó el efecto de dos extractos fermentados de *A. oryzae* en la alimentación en vacas productoras Holstein, donde los datos obtenidos sugieren que no hubo diferencias en parámetros de peso corporal entre los grupos suplementado y control (Sucu et al., 2019).

Los promedios (media  $\pm$  desviación estándar) de las mediciones diarias de producción de leche por animal presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), dado que la producción promedio de leche del grupo control fue de 12,77 kg, mientras que las vacas suplementadas con Rumino-Zyme® alcanzaron un promedio individual de 14,43 kg (Cuadro 2). Considerando que ambos grupos recibían la misma dieta,

presentaban días de lactancia similares ( $82,90 \pm 66,55$  días para el grupo control y  $83,70 \pm 68,40$  días para el grupo experimental) y estaban expuestos a las mismas condiciones climáticas, se infiere que el aumento en la producción se atribuye a la suplementación adicional del producto comercial administrado al grupo experimental.

El efecto de la implementación de enzimas fibrolíticas exógenas en la producción de leche en vacas lactantes ha sido objeto de diversos estudios; los cuales han observado un aumento en la producción de leche mediante el suministro de enzimas fibrolíticas exógenas, estos incrementos han sido modestos y no han alcanzado niveles significativos en comparación con los hallazgos presentes en este estudio (Yang et al., 200; Kung et al., 2000; Rode et al, 1999). Es importante señalar que no todos los estudios han arrojado resultados positivos; algunos investigadores han reportado que la ingesta de estas enzimas no ha tenido ningún efecto significativo en la productividad de las vacas lactantes, posiblemente debido a que las dosis administradas o el pH ruminal podrían haber afectado la actividad enzimática (Sutton et al., 2003; Beauchemin et al., 2000; Kung et al., 2002).

Cuadro 2: Comparación de parámetros productivos (media  $\pm$  desviación estándar) entre el grupo control y Rumino-Zyme® en ganado lechero en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

Parámetros estadísticos	Condición corporal	Variables evaluadas				
		Grasa	Proteína	Lactosa	Sólidos Totales	Kilogramos totales
Promedio control	$2,58 \pm 0,29^a$	$4,38 \pm 0,66^a$	$3,48 \pm 0,44^a$	$4,65 \pm 0,32^a$	$12,99 \pm 1,49^a$	$12,77 \pm 3,30^a$
Promedio Rumino-Zyme®	$2,60 \pm 0,30^a$	$4,39 \pm 0,94^a$	$3,52 \pm 0,35^a$	$4,70 \pm 0,24^a$	$13,31 \pm 1,22^a$	$14,43 \pm 3,98^b$
Valor p_ajustado	0,731	0,629	0,448	0,640	0,861	3,75E-14

Los datos de referencia muestran que los grupos control y suplementado presentaban un promedio de producción de leche diaria de  $15,66 \pm 3,42$  y  $15,84 \pm 5,99$ , respectivamente, lo que sugiere que las diferencias entre los grupos no eran significativas. En contraste, las disparidades entre los tratamientos en cuanto a la producción diaria de leche por grupo, como se muestra en la Figura 1, indican que las

vacas a las que se les adicionó Rumino-Zyme® exhibieron un promedio superior en la producción láctea.

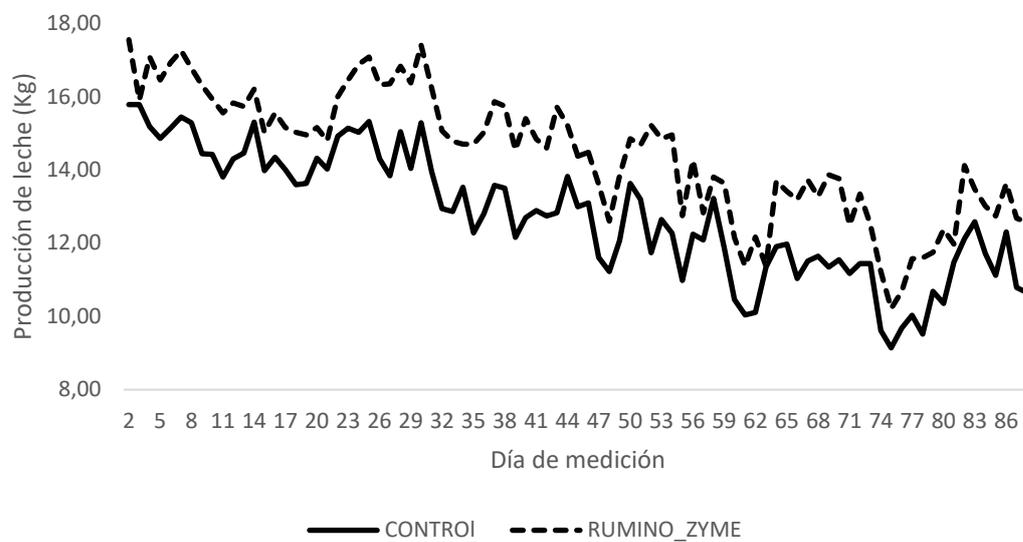


Figura 1: Producción de leche diaria en vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

El rumen, como uno de los cuatro compartimentos del sistema digestivo de los rumiantes, destaca por su extenso tamaño y su relevancia metabólica. Aunque carece de la capacidad de secretar enzimas digestivas, alberga una de las comunidades bacterianas más complejas y eficientes de todos los organismos del planeta, junto con protozoos y hongos, cuya función principal es la degradación y fermentación del alimento (De Peters & George, 2014). La investigación recopilada por Carro & Ranilla (2002) señala que los aditivos exógenos, especialmente los mohos y levaduras, promueven cambios en la población microbiana del rumen y en sus modelos fermentativos.

Dentro de los principales efectos del hongo filamentoso *A. oryzae* como probiótico, se encuentran: mejora la degradación de la fibra, estimula el crecimiento de bacterias que utilizan el ácido láctico como *Selenomonas ruminantium* y *Megasphaera elsdenii*, reduce la concentración de ácido láctico en el rumen e incrementa el pH (Cortés, Guadarrama, & Díaz, 2014; Waldrip, & Martin, 1993). Otros investigadores expusieron que *A. oryzae* aceleró y elevó la producción de zoosporas, mejoró el desarrollo de rizoides del hongo *Neocallimastix frontalis* EB 188 y aumentó la tasa de secreción de carboximetilcelulasa y B-glucosidasa (Schmidt et al., 2004; Chang et al., 1999).

Otros estudios que suplementaron con enzimas exógenas como la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han demostrado resultados positivos, incrementando la producción total de ácidos grasos volátiles, ácido propiónico, ingesta total de materia seca y concentración de propionato (Cakiroglu et al., 2010; Schingoethe et al., 2004; Ondarza et al., 2010). Miller-Webster et al., (2009) señalan que niveles elevados de ácidos grasos volátiles, especialmente el propiónico, son cruciales para la producción de volumen de leche, producción de lactosa y equilibrio energético. La degradación proteolítica inducida por la suplementación de *A. oryzae* desempeña un papel significativo en el aumento de ácidos grasos volátiles de cadena ramificada; tal como lo señala Boing (1983) en su ensayo, al describir la función de degradación proteica del hongo *A. oryzae*.

La investigación reveló que el grupo que recibió el suplemento Rumino-Zyme® inicialmente presentaba una ligera inferioridad en la condición corporal con relación al grupo control (Cuadro 3), como se indica en los valores promedio de las mediciones iniciales. Sin embargo, a medida que avanzaba el estudio, se observó una tendencia positiva en el grupo suplementado con Rumino-Zyme®, reflejada en un aumento gradual de los valores promedio de condición corporal en comparación con el grupo control; este incremento progresivo en la condición corporal sugiere que el suplemento Rumino-Zyme® podría tener efectos benéficos a largo plazo en el estado corporal de las vacas.

Cuadro 3: Evaluación de la condición corporal (media  $\pm$  desviación estándar) en vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

Medición	Control	Rumino-Zyme®
1	2,40 $\pm$ 0,39	2,31 $\pm$ 0,27
2	2,40 $\pm$ 0,21	2,31 $\pm$ 0,26
3	2,55 $\pm$ 0,35	2,53 $\pm$ 0,25
4	2,60 $\pm$ 0,32	2,69 $\pm$ 0,35
5	2,68 $\pm$ 0,17	2,66 $\pm$ 0,23
6	2,68 $\pm$ 0,31	2,81 $\pm$ 0,22

De acuerdo a los hallazgos de Otto et al., (1991), se establece que una unidad de cambio en la condición corporal en bovinos de raza Holstein equivale a 56

kilogramos de peso corporal; los resultados indican que al concluir el período de tres meses de suplementación con *R. oryzae*, el grupo experimental manifestó un incremento de 28 kilogramos por animal al mejorar 0,5 unidades de condición corporal al finalizar el estudio, mientras que el grupo control mostró un aumento de solo 15,68 kilogramos equivalentes a 0,28 unidades de condición corporal.

Un estudio desarrollado para evaluar el efecto de una enzima polisacaridasa sin almidón derivada del hongo *Thermomyces lanuginosus* en ganado lechero arrojó resultados comparables a los obtenidos en este estudio. Las vacas tratadas con la enzima comenzaron con una condición corporal 0,2 unidades menor que las vacas del grupo control, pero hacia la mitad del período experimental, las vacas tratadas mostraron una mejora en su condición corporal superando al grupo control en 0,4 unidades en el último muestreo (Jurkovich et al., 2002).

Se han realizado investigaciones en diversas especies, como en ovejas, donde los resultados obtenidos destacan que la suplementación con concentrados de *A. oryzae* podría mejorar la alimentación y la producción debido a una mayor digestibilidad de la materia seca (Guo et al., 2022). Hallazgos similares se observaron en ganado lechero en producción, donde se encontró que los extractos de *A. oryzae* incrementaron la tolerancia al estrés calórico y la eficiencia alimenticia al aumentar la degradación y digestibilidad de la fibra en el tracto digestivo total (Gómez, Dudas, & Huber, 1990).

Guo et al., (2022) determinaron que los concentrados de *A. oryzae* tienen la capacidad de estabilizar el ambiente fermentativo del rumen, asegurando un crecimiento de bacterias beneficiosas, reduciendo el número de protozoos y aumentando el número de bacterias anaeróbicas; esto influye en la mejora de la fermentación y degradación de nutrientes a nivel ruminal durante las 24 horas post-implementación, lo que conlleva a una mejor degradación de la materia seca. Otro punto importante es la estabilización del pH ruminal, el incremento de la actividad bacteriana proporciona la fermentación del lactato, lo cual incide directamente en la disminución del ácido láctico en el rumen que se asocia con un pH ruminal bajo (Slyter, 1976).

En el Cuadro 4, se observa que en gran parte de los muestreos el grupo suplementado con Rumino-Zyme® exhibe valores medios en los porcentajes de

sólidos totales ligeramente superiores en comparación con el grupo control. No obstante, estas disparidades no son uniformes en todas las mediciones y no se puede inferir claramente una tendencia hacia la mejora de la calidad de la leche. A pesar de ello, el aumento en la producción de leche en las vacas suplementadas sugiere un efecto beneficioso del suplemento Rumino-Zyme® en la producción lechera, sin comprometer la calidad de la leche.

Cuadro 4: Porcentaje de sólidos totales (media  $\pm$  desviación estándar) en leche de vacas control y suplementadas con Rumino-Zyme® en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

Medición	Control	Rumino-Zyme®
1	13,20 $\pm$ 0,49	13,03 $\pm$ 0,85
2	13,03 $\pm$ 0,72	13,29 $\pm$ 1,35
3	13,45 $\pm$ 0,71	13,01 $\pm$ 1,09
4	12,80 $\pm$ 0,73	12,99 $\pm$ 1,26
5	11,83 $\pm$ 2,77	13,20 $\pm$ 1,28
6	13,83 $\pm$ 0,58	13,99 $\pm$ 1,15

La absorción de sustrato para la síntesis de glucosa en el hígado de vacas lecheras se estima entre el 60% y el 74%, principalmente a través del propionato, y se destaca que la glándula mamaria es uno de los tejidos que más demandan glucosa (Aschenbach et al., 2010). Se ha observado que los animales alimentados con aditivos presentan una mayor concentración de ácidos grasos volátiles totales en el líquido ruminal, lo que sugiere una mayor fermentación de los nutrientes proporcionados por la dieta (Oh et al., 2019). A partir de esto, es razonable suponer que la síntesis de proteínas de la leche mejora debido a la mayor disponibilidad de aminoácidos que pueden ser absorbidos en el intestino delgado.

Con la incorporación de enzimas derivadas del hongo *T. lanuginosus* a la alimentación de vacas lecheras, los ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butírico) incrementaron significativamente aproximadamente a los 58 días post-parto (Jurkovich et al., 2002). La proporción de ácidos grasos volátiles en el rumen desempeña una función crucial en la cantidad y calidad de la leche producida. Seymour et al., (2005) demostraron una correlación positiva entre los niveles de butirato y propionato y la producción láctea. Además, se ha observado una asociación

positiva entre los niveles de acetato y la concentración de grasa en la leche (Mikolajczyk, Pecka-Kielb, & Zachwieja, 2019).

En diferentes investigaciones se ha observado que los conteos de células somáticas, así como los niveles de grasa, proteína y sólidos totales en la leche, han sido influenciados por un efecto de dilución/concentración, el cual está relacionado con el volumen de leche producido por cada animal (Duque, Olivera, & Rosero, 2011; WingChing, & Mora, 2015). Campabadall (1999) explica que este fenómeno implica una relación inversa entre el volumen de leche producida y el porcentaje de sus constituyentes; es decir, cuando aumenta la producción en volumen, los componentes mencionados anteriormente sufren un efecto de dilución. Sin embargo, se observa que el tratamiento suplementado con *A. oryzae* condujo a un aumento en el volumen de leche producida, pero la calidad de la leche no se vio afectada, y esto indica que no se produjo el efecto de dilución mencionado anteriormente.

Se planteó un análisis económico comparativo entre los dos grupos (Cuadro 5). Se observa que el precio promedio de la leche en ambos grupos es diferente debido a la calidad de la leche; por otra parte, la producción de leche en el grupo de tratamiento es ligeramente mayor, con una media de 14,43 kg en comparación con los 12,77 kg del grupo control. Esto se traduce en un aumento en los ingresos que ascienden a ₡6 252,81 en el grupo de tratamiento, frente a los ₡5 366,21 del grupo control. La diferencia total en ingresos entre ambos grupos es de ₡864,85.

Cuadro 5: Análisis económico del uso del suplemento Rumino-Zyme® en ganado lechero en Finca La Esmeralda, Alajuela, Costa Rica, 2023.

Variable	Control	Rumino-Zyme®
Precio de la leche (₡)	420,22	426,95
Producción de leche (Kg)	12,77	14,43
Ingreso (₡)	5366,21	6252,81

Vari

- ❖ Diferencia según producción: ₡ 697,56
- ❖ Diferencia según componentes en leche: ₡ 85,94
- ❖ Diferencia total: ₡ 794,68
- ❖ Costo de la dosis: ₡ 62,64
- ❖ ROI: 12,69 veces inversión

El análisis del retorno de la inversión (ROI) revela que el suplemento Rumino-Zyme® genera un retorno del 12,69 por cada unidad monetaria invertida. Este dato no solo evidencia la eficacia financiera del suplemento, sino también su impacto positivo en la rentabilidad y la eficiencia de las operaciones en la industria ganadera. Los aditivos han sido fundamentales en el mejoramiento de la productividad del ganado lechero al optimizar la digestión y absorción de nutrientes, resultando en un aumento significativo de la producción de leche por animal.

Además de aumentar la cantidad de leche producida, los suplementos mejoran la calidad del producto final al mejorar la salud digestiva del ganado. Esto se traduce en una leche de mayor calidad, con niveles más altos de componentes nutricionales clave, fortaleciendo tanto su valor en el mercado como la reputación del productor como proveedor de productos lácteos de alta calidad. Estos beneficios en producción y calidad no solo aumentan los ingresos, sino que también contribuyen a la rentabilidad a largo plazo de las operaciones ganaderas.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos revelan un impacto significativo en la producción láctea en el grupo suplementado con hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae*. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la calidad de la leche en términos de sólidos totales.

Los datos de este estudio no evidenciaron diferencias significativas en la condición corporal entre el grupo suplementado y el grupo de control. No obstante, se observó una leve mejoría en la condición corporal de las vacas que recibieron la suplementación de hemicelulasas y esporas de *Aspergillus oryzae*.

El análisis del ROI del suplemento Rumino-Zyme® destaca su impacto financiero positivo y su papel crucial en la mejora de la productividad, la calidad del producto y la rentabilidad en la industria ganadera. Por lo tanto, la adición de enzimas exógenas se presenta como una herramienta valiosa para los productores que buscan maximizar el rendimiento de sus actividades agropecuarias de manera sostenible y rentable, optimizando la eficiencia de la producción de leche y fortaleciendo el sector ganadero en su conjunto.

Se sugiere llevar a cabo un estudio en animales que abarque desde la etapa de gestación hasta la etapa de secado, con el fin de evaluar el efecto a largo plazo de la suplementación con Rumino-Zyme®.

En futuros trabajos se propone evaluar variables relacionadas con la reproducción y el metabolismo, como la tasa de concepción, el intervalo entre partos y el pH ruminal.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aschenbach, J., Kristensen, N., Donkin, S., Hammon, H., & Penner, G. (2010). Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life*, 62 (12), 869–877. <https://doi.org/10.1002/iub.400>
- Bata, A., Kutasi, J., Jurkovich, V., Fébel, H., & Rafai, B. (2002). Activity and stability of a fungal 1,4-beta-endo xylanase preparation in the rumen of sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 11, 627-635.
- Beauchemin, K., Rode, L., Maekawa, M., Morgavi, D., & Kampen, R. (2000) Evaluation of a Nonstarch Polysaccharidase Feed Enzyme in Dairy Cow Diets. *Journal of Dairy Science*, 83(3), 543–553. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74914-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74914-9)
- Bertrand, J., & Grimes, L. (1997). Influence of tallow and *Aspergillus oryzae* fermentation extract in dairy cattle rations. *Journal of Dairy Science*, 80(6), 1179-1184.
- Boing, J. (1983). Enzyme production. *Industrial microbiology*, 4<sup>th</sup> ed, 685-689.
- Brenes, C., Vargas, J., & Abarca, S. (2013). Modelado de un Sistema de Información para el Manejo de Lecherías en el cantón de Turrialba, Costa Rica. UCR. San José, Costa Rica.
- Brydl, E., Rafai, P., Jurkovich, V., Konyves, L., Tegzes, L., Kutasi, J., Bata, A., Nagy, G., Bartyik, J., & Fulup, A. (2003). The effects of a non-starch polysaccharidase enzyme preparation from *Thermomyces lanuginosus* on the ruminal volatile fatty acid production, energy and protein metabolism and milk yield of dairy cattle. *ISAH*, 50(4), 395-411.
- Cakiroglu, D., Meral, Y., Pekmezci, D., & Akdag, F. (2010). Efectos del cultivo de levadura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la producción de leche y los niveles de lípidos en sangre de las vacas al comienzo de la lactancia. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(9), 1370–1374.
- Calderón, A. (2002). Cuantificación de factores de riesgo de mastitis en sistemas elite de producción de leche en el altiplano Cundiboyacense. Tesis de Maestría,

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia.

- Calderón, A., García, F., & Martínez, G. (2006). Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Rev. MVZ Córdoba*, 11(1), 725-737.
- Campabadal, C. (1999). Factores que afectan el contenido de sólidos de la leche. Memorias. II Seminario internacional sobre calidad de la leche. *Nutrición Animal Tropical*, 5(1). 1-92.
- Carro, M., & Ranilla M. (2002). Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 56 (1), 46-49.
- Castro Alvarez, D., García Salas, M., Rodríguez Franco, G., & Ruiz Figueroa, E. (2018). Condición corporal y su relación con la producción de leche y el número de servicios por preñez en vacas Holstein. *Anales Científicos*, 79 (2), 473 – 476.
- Chang, J., Harper, E., & Calza, R. (1999). Fermentation extract effects on the morphology and metabolism of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *Journal of Applied Microbiology*, 86(3), 389–398. doi:10.1046/j.1365-2672.1999.00673.x. PMID:10196744.
- Choco, H. (2019). Análisis de la cadena de producción, transformación y comercialización de la leche en el sur del cantón de Turrialba, Costa Rica [Tesis para Maestría]. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Cortés-Sánchez, ., Guadarrama, L., & Díaz- Ramírez, M. (2014). Producción de biomasa a partir de *Aspergillus oryzae* en cultivo sumergido. *Biotechnia*, 16 (3), 11-15.
- De la Cruz, E., Simbaña, P., & Bonifaz, N. (2018). Gestión de calidad de leche de pequeños y medianos ganaderos de centros de acopio y queserías artesanales, para la mejora continua. caso de estudio: Carchi, Ecuador. *Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 124-139.

- DePeters, E., & George, L. (2014). Rumen transfaunation. *Elsevier*, 16 (2), 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.05.009>
- Duffield, T., Sandals, D., Leslie, K., Lissemore, K., McBride, B., Lumsden, J., Dick, P., & Bagg, R. (1998). Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81(11), 2866-2873.
- Duque, M., Olivera, M., & Rosero, R. (2011). Metabolismo energético en vacas durante la lactancia temprana y el efecto de la suplementación con grasa protegida. *Revista Colombia de Ciencias Pecuarias*, 24(1), 74-82.
- Esposito, G., Irons, P., Webb, E., & Chapwanya, A. (2013). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 1-12.
- García, A., Cardoso, F., Campos, R., Thedy, D., & González, F. (2011). Metabolic evaluation of dairy cows submitted to three different strategies to decrease the effects of negative energy balance in early postpartum. *Pesq. Vet. Bras*, 31(1), 11-17.
- Gómez-Alarcón, R., Dudas, C., & Huber, J.(1990). Influence of Cultures of *Aspergillus oryzae* on Rumen and Total Tract Digestibility of Dietary Components. *Journal of Dairy Science*, 73(3), 703-710. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78723-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78723-1)
- Gomez-Alarcón, R., Dudes, C., & Huber, J. (1990). Influence of Cultures of *Aspergillus oryzae* on Rumen and Total Tract Digestibility of Dietary Components. *Journal of Dairy Science*, 73(3), 703-710. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011001300003>
- Guo, L., Zhang, D., Du, R., Li, F., Li, F., & Ran, T. (2022). Supplementation of *Aspergillus oryzae* Culture Improved the Feed Dry Matter Digestibility and the Energy Supply of Total Volatile Fatty Acid Concentrations in the Rumen of Hu Sheep. *Frontiers in Nutrition*, 25(9), 1-12. doi: 10.3389/fnut.2022.847156
- Gutiérrez León, F., Rocha, J., Portilla, A., & Ruales, B. (2019). Efecto de la suplementación en vacas de pastoreo sobre la producción, eficiencia del uso y

costo                      beneficio.                      *Siembra*,                      6(1),                      1-13.  
<https://doi.org/10.29166/siembra.v6i1.1554>

- Higginbotham, G., Bath, D., & Butler, J. (1993). Effect of Feeding an *Aspergillus oryzae* Extract on Milk Production and Related Responses in a Commercial Dairy Herd. *Journal of Dairy Science*, 76(5), 1484-1489.
- Jurcovich, V., Brydl, E., Rafai, P., Konives, L., Tegzes, L., Kutasi, J., Bata, A., Nagy, G., Bartyik, J., & Fulup, A. (2002). Effects of a non-starch polysaccharidase enzyme preparation from *thermomyces lanuginosus* on energy and protein metabolism and milk yield of dairy cattle. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50 (4), 395–411.
- Kung, L., Cohen, M., Rode, L., & Treacher, R. (2002). The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(9), 2396-2402. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74321-X
- Kung, L., Jr., Treacher, R., Nauman, G., Smagala, A., Endres, K., & Cohen, M. (2000). The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83(1), 115–122. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74862-4
- Mera Andrade, R., Muñoz Espinoza, M., Artieda Rojas, A., Ortíz Tirado, P., González Salas, R., & Vega Falcón, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11), 1-16.
- Mikolajczyk, K., Pecka-Kielb, E., & Zachwieja, A. (2019). Impact of the volume and the profile of volatile fatty acids in the rumen fermentation on cow productivity and milk composition. *Agricultural and Food Sciences*, 69(4), 222-228. doi: 10.15567/mjekarstvo.2019.0402
- Miller-Webster, T., Hoover, W., Holt, M., & Nocek, J. (2009). Influence of Yeast Culture on Ruminant Microbial Metabolism in Continuous Culture. *Journal of Dairy Science*, 85(8), 2014-2021. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74277-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74277-X)

- Oh, J., Harper, M., Melgar, A., Paulus, D., & Hristov, A. (2019). Effects of *Saccharomyces cerevisiae*-based direct-fed microbial and exogenous enzyme products on enteric methane emission and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(7), 6065-6075. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15753>
- Ondarza, B., Sniffen, C., Graham, H., & Wilcock, P. (2010). Effect of supplemental live yeast on milk yield and milk components in high-producing multiparous Holstein cows. *The Professional Animal Scientist*, 26(4), 443–449. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30626-4](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30626-4)
- Otto, K., Ferguson, J., Fox, D., & Sniffen, C. (1991). Relationship between body condition score and composition of ninth to eleventh rib tissue in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74(3), 852-859. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78234-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78234-9)
- Pérez, E. (2017). Manual de manejo sistemas intensivos sostenibles de ganadería de leche. INTA, San José, Costa Rica.
- Phakachod, N., Suksombat, W., Colombatto, D., & Beauchemin, K. (2013). Use of fibrolytic enzymes additives to enhance *in vitro* ruminal fermentation of corn silage. *Livestock Science*, 157(1), 100-112. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.06.020>
- Rode, L., Yang, W., & Beauchemin, K. (1999). Fibrolytic Enzyme Supplements for Dairy Cows in Early Lactation. *Journal of Dairy Science*, 82(10), 2121-2126. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75455-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75455-X)
- Saborío Montero, A., & Sánchez, J. (2014). Evaluación de la condición corporal en un hato de vacas jersey en pastoreo en la zona alta de Cartago. Variaciones durante el ciclo productivo. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 55-65.
- Sallam, S., Abdelmalek, M., Kholif, A., Zahran, S., Ahmed, M., Zeweil, H., Attia, M., Matloup, O., & Olafadehan, O. (2019). The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows. *Animal Biotechnology*, 31(6), 491-497. <https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1625783>

- Schingoethe, D., Linke, K., Kalscheur, K., & Hippen, A. (2004). Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during the summer. *Journal of Dairy Science*, 87(12), 4178–4181. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73561-4
- Schmidt, J., Albright, S., Calza, G., & Calza, R. (2004). Characterization of *Aspergillus oryzae* fermentation extract effects on the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*, EB 188. Part 2. Carbon source utilization and effects on zoospore production. *Journal of Applied Microbiology*, 63(4) 431–437. doi:10.1007/s00253-003-1294-7. PMID:12690418.
- Seymour, W., Campbell, D., & Johnson, Z. (2005). Relationships between rumen volatile fatty acid concentrations and milk production in dairy cows: a literature study. *Animal Feed Science and Technology*, 119(1-2), 155-169. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.10
- Slyter, L. (1976). Influence of acidosis on rumen function. *Journal of Animal Science*, 43(4), 910–929. doi: 10.2527/jas1976.434910x
- Sucu, E., Moore, C., VanBaale, M., Jensen, H., Sanz-Fernandez, M., & Baumgard, L. (2019). Effects of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation product to transition Holstein cows on performance and health. *Canadian Journal of Animal Science*, 99(2), 237-243. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0037>
- Sutton, J., Phipps, R., Beever, D., Humphries, D., Hartnell, G., Vicini, J., & Hard, D. (2003). Effect of Method of Application of a Fibrolytic Enzyme Product on Digestive Processes and Milk Production in Holstein-Friesian Cows. *Journal of Dairy Science*, 86(2), 546 – 556. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73633-9
- Vargas Leitón, B., & Gamboa Zeledón, G.(2008). Estimación de tendencias genéticas e interacción genotipo x ambiente en ganado lechero de Costa Rica. *Técnica Pecuaria México*, 46(4), 371-386.
- Vazquez-Ramírez, M., Curbelo-Rodríguez, J., & Ortiz-Colón, G. (2021). Supplementation of dairy calves with digestive enzymes and fermentation products of *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 105(1), 23-37.

- Waldrip H., & Martin, S. (1993). Effects of *an Aspergillus oryzae* fermentation extract and other factors on lactate utilization by the ruminal bacterium *Megasphaera elsdenii*. *Journal of Animal Science*, 71(10), 2770–2776. doi: 10.2527/1993.71102770x
- WingChing, R., & Mora, E. (2015). Condiciones ambientales y calidad de la leche cruda de un hato Jersey especializado en el trópico húmedo de Costa Rica. *UNED*, 7(2), 165-171.
- Yang, W., & Beauchemin, K. (2007). Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Digestion and milk production. *Journal Dairy Science*, 90, 3410-3421. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0032>
- Zarrin, M., Grossen-Rosti, L., Bruckmaier, R., & Gross J. (2017). Elevation of blood  $\beta$ -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. *American Dairy Science Association*, 100, 1-11. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11714>