

**Universidad Nacional  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Impacto productivo del uso de carbohidratos  
complejos de paredes celulares de levaduras  
(*Saccharomyces cerevisiae*) en la nutrición de hatos  
lecheros.**

**Modalidad: Tesis de grado**

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado  
Académico Licenciatura en Medicina Veterinaria**

**Esteban Romero Herrera**

**Campus Presbítero Benjamín Núñez  
2007**

**TRIBUNAL EXAMINADOR**

Nombre \_\_\_\_\_

Decano \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Director \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Tutor \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Lector \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Lector \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

## **DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo no podría ir dedicado más que a una persona: mi madre, quien ha sido el apoyo incondicional no solo en esta, sino en todas las metas que me he trazado a lo largo del tiempo. Le dedico este trabajo porque ha sido ejemplo de dedicación, cariño, esfuerzo y sobre todo porque como me ha acompañado hasta este momento, estoy seguro que lo seguirá haciendo en este camino lleno de sorpresas que es la vida.

Por otra parte, debo agradecer de manera particular a aquellas personas que también me dieron su apoyo en la elaboración del presente trabajo y gracias a los cuales se culmina otra etapa de mi vida. En primer lugar, agradezco al MSc. Eladio Alvarado y las personas de Saf Mex por facilitarme la oportunidad de desarrollar la presente investigación; a los doctores Frank Hueckmann y Adriano Ramírez por fungir no solo como lectores, sino también como un ejemplo de superación profesional: gracias por ser esa luz en el horizonte que marca el buen camino. Asimismo deseo agradecer a mis compañeros cercanos que fueron la familia con la que compartí la mayor parte del tiempo universitario. A Carlita y mi abuela, por ser la familia verdadera que siempre me acompañó.

No puedo dejar por fuera la empresa Dos Pinos: funcionarios del Laboratorio de Calidad de Leche, del Almacén Agro-veterinario de Coronado, en especial a don Jorge Volio y por supuesto a los propietarios y trabajadores de las fincas lecheras que permitieron el desarrollo de la investigación en sus instalaciones y quienes con su trabajo la hicieron posible.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>TRIBUNAL EXAMINADOR.....</b>	i
<b>DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS.....</b>	ii
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS.....</b>	iii
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	v
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	vi
<b>ABREVIATURAS UTILIZADAS.....</b>	vii
<b>RESUMEN.....</b>	viii
<b>ABSTRACT.....</b>	ix
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	1
<b>1.1. Antecedentes.....</b>	2
<b>1.1.1. Levaduras vivas.....</b>	2
<b>1.1.2. Paredes celulares de levaduras.....</b>	3
<b>1.1.3. Extracción y concentración de los mananos y <math>\beta</math>-glucanos .....</b>	3
<b>1.1.4. Estímulo inmunológico.....</b>	3
<b>1.1.5. Las micotoxinas en la dieta de vacas lecheras.....</b>	4
<b>1.2. Justificación.....</b>	4
<b>1.2.1. Importancia.....</b>	4
<b>1.2.2. Hipótesis.....</b>	5
<b>1.3. Objetivos.....</b>	5
<b>1.3.1. Objetivo general.....</b>	5
<b>1.3.2. Objetivos específicos.....</b>	5
<b>2. METODOLOGÍA: MÉTODOS Y MATERIALES.....</b>	7
<b>2.1. Área de estudio.....</b>	7
<b>2.2. Descripción de los animales.....</b>	7

2.3. Manejo experimental.....	7
2.4. Recolección de datos.....	8
2.5. Análisis estadístico.....	9
3. RESULTADOS.....	10
3.1. Impacto sobre la producción de leche.....	10
3.2. Aflatoxinas totales en los alimentos.....	12
3.3. Efecto sobre los niveles de AFM <sub>1</sub> en leche.....	15
4. DISCUSIÓN.....	16
4.1. Producción láctea.....	16
4.2. Aflatoxinas en los alimentos.....	17
4.3. Impacto sobre la excreción de AFM <sub>1</sub> en leche.....	18
4.4. Conclusiones.....	19
4.5. Recomendaciones.....	20
5. FUENTES CITADAS.....	22
6. ANEXOS.....	28

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Efecto del uso de MOS sobre la producción de leche y su impacto económico	11
<b>Cuadro 2.</b>	Ingesta total de aflatoxinas según la ración diaria ofrecida en cada finca	15

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b>	Comportamiento de los componentes de la leche ante la aplicación de MOS a la dieta de las vacas	10
<b>Figura 2.</b>	Comportamiento de la proteína en leche ante la aplicación de MOS a la dieta de las vacas	11
<b>Figura 3.</b>	Comportamiento de los niveles de AT en el concentrado para vacas en producción para cada finca durante una semana	12
<b>Figura 4.</b>	Comportamiento de los niveles de AT en el suplemento a base de subproducto de naranja para cada finca durante una semana	13
<b>Figura 5.</b>	Comportamiento de los niveles de AT en la cáscara de banano cruda para cada finca durante una semana	13
<b>Figura 6.</b>	Comportamiento de los niveles de AT para el desecho de cervecería en la finca 4069	14
<b>Figura 7.</b>	Comportamiento de los niveles de AT para la cascarilla de soya en la finca 003	14

**ABREVIATURAS UTILIZADAS**

<b>AFB<sub>1</sub>:</b>	Aflatoxina B <sub>1</sub>
<b>AFM<sub>1</sub>:</b>	Aflatoxina M <sub>1</sub>
<b>AT:</b>	Aflatoxinas totales
<b>CCS:</b>	Conteo de células somáticas
<b>CEE:</b>	Comunidad Económica Europea
<b>CINA:</b>	Centro de Investigación en Nutrición Animal
<b>CV:</b>	Coefficiente de Variación
<b>D. Prom:</b>	Diferencia entre promedios
<b>Dv St:</b>	Desviación Standard
<b>ELISA:</b>	Ensayo inmunosorbente por unión de enzimas
<b>FDA:</b>	Agencia para el Control de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos
<b>GC:</b>	Grupo Control
<b>GT:</b>	Grupo con Tratamiento
<b>MOS:</b>	Carbohidratos complejos de paredes celulares de levadura (mananos y β-glucanos)
<b>MS:</b>	Materia seca
<b>MSD:</b>	Requerimiento diario de materia seca
<b>Msnm:</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>PDC:</b>	Producción diaria corregida a 305 días
<b>ppb:</b>	Partes por billón (μg/Kg)
<b>Prom:</b>	Promedio
<b>OMS:</b>	Organización Mundial para la Salud
<b>VAMPP:</b>	Veterinary Automated Management and Production Control Program
<b>%Conf:</b>	Índice de confianza

## RESUMEN

Se llevó a cabo un trabajo experimental con 227 vacas lecheras de la raza Holstein en 5 fincas de la zona de Coronado, con el fin de estudiar el efecto de la suplementación con paredes celulares de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ricas en mananoligosacáridos y  $\beta$ -glucanos. La dosis suministrada al grupo tratamiento es de 10 gramos/animal/día, agregado sobre la ración de concentrado una vez al día, durante 6 semanas.

Los parámetros lácteos evaluados son: porcentajes de grasa, lactosa, proteína y sólidos totales, conteos de células somáticas y producción diaria de leche en litros corregida a 305 días para evaluar el impacto productivo. Se observó un incremento significativo sobre la porción proteica y volumen de leche de 0,126% y 1,31 litros en promedio respectivamente ( $p < 0,005$ ); mientras los parámetros restantes tendieron al incremento aunque no significativamente.

Se evaluó además todas las fuentes de alimento exceptuando pasto fresco, con el propósito de titular los niveles de aflatoxinas totales y observar su comportamiento en el lapso de una semana; en conjunto monitoreando los niveles de aflatoxina  $M_1$  en la leche para evaluar el efecto secuestrante del producto. Se observó un crecimiento exponencial de las aflatoxinas totales en todos los suplementos sin llegar a sobrepasar el límite máximo permitido por cada kilogramo de dieta final. La concentración de  $M_1$  en leche tendió a la baja sin llegar a ser significativa ( $p > 0,05$ ).

Se demostró que la adición de paredes celulares de levaduras para uso zootécnico impacta positivamente la economía de las fincas donde se utiliza, sin embargo el grado de beneficio va a depender de la base dietética, las prácticas de alimentación y de los métodos de ordeño y manejo que se utilicen.

## ABSTRACT

It was carried out an experimental work with 227 Holstein breed dairy cows in 5 farms of Coronado, to study the effect of supplementation with yeast cells walls (*Saccharomyces cerevisiae*) rich in mannanoligosaccharides and  $\beta$ -glucans. The used dose to treated group was 10 grams/animal/day, added on top of the daily food supplement ration, once a day for a 6 weeks period.

The dairy parameters evaluated were: percentages of fat, lactose, protein and total solids, somatic cells counts and daily milk production amounts in liters corrected to 305 days, with the objective of evaluate productive impact. It was sown an improvement on protein fraction and daily production volumes of 0,126% and 1,31 liters on mean respectively ( $p < 0,005$ ); meanwhile other parameters tended to grows but not significantly.

As well as productive parameters, all feed sources excluding fresh grass were evaluated; with the purpose to measure the total aflatoxin levels and establish its compartment during one week period, in the meantime measuring the values of aflatoxin  $M_1$  in milk to evaluate the product aflatoxin binding effect. It was sown an exponential amount on aflatoxins in every supplement, even though insufficient for overpass the limit by Kg on daily food composition. Aflatoxin  $M_1$  concentration decrease but not enough to be significant ( $p > 0,05$ ).

The addition of yeast cells walls for zootechnic use demonstrated to have improving effects on dairy farms where used, however the final impact will depend on dietetic base, feeding practices, milking methods and managing programs used.

## 1. INTRODUCCIÓN

La manipulación de la composición láctea ha sido uno de los principales intereses en la investigación pecuaria a lo largo de los últimos años. Las razones para llevar a cabo dichos esfuerzos, se sustentan en aumentar el valor nutricional de la leche fresca y sus derivados acorde con las exigencias de mercado, optimizar los procedimientos de manufactura de los subproductos y utilizarlos como vehículos para ofrecer una gama de nutracéuticos con beneficios reconocidos para la salud humana (Jenkins y McGuire, 2006).

En cuanto a los volúmenes de producción, la explosión demográfica actual ha generado en las últimas décadas un crecimiento de la población mundial cercano al 140% (Navarro, 2006), lo que ha acarreado el agotamiento casi inminente de la llamada “Revolución Verde” de Edward Shuh en la cual el crecimiento de la producción agrícola mundial había superado al demográfico. Este concepto, aunado a las recomendaciones de la Organización Mundial para la Salud (OMS), a las exigencias de los mercados mundiales de disminuir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento y a la seguridad alimentaria del consumidor; hacen menester el desarrollo e implementación de nuevas técnicas en nutrición animal, buscando un concilio entre el aumento productivo y un ambiente saludable (Brufau, 1999; Timmerman et al., 2005; Hruby, 2005).

La industria lechera moderna no ha escapado a procesos de tecnificación, globalización y competencia, lo que ha obligado a presionar el sistema productivo mediante incrementos en la densidad animal e implementación de estrategias de alimentación agresivas; generalmente abusando del uso de concentrados y subproductos agrícolas ricos en carbohidratos rápidamente fermentables que generan un desbalance nutricional y homeostático en los animales (Alvarado, 2000).

Alternativas como el uso de ácidos orgánicos, probióticos, prebióticos, enzimas y estrategias de alimentación adecuadas, cobran cada vez más fuerza dentro de la producción animal. Si bien el uso de levaduras vivas ha demostrado ser una herramienta sumamente útil como promotor de la producción bovina debido a sus características de optimizador ruminal (Almeida y Monteiro, 2004;

Beharka et al., 1998; Dann et al., 2000; García et al., 2004; Greene, 2002; Greene y Silva, 2004; Hildabrand et al., 2004; Lesmeister et al., 2004), no está del todo explícito si sus cualidades van más allá de simplemente controlar el ambiente pre-estomacal o si también son capaces de inducir una mejora en el sistema inmune de los rumiantes gracias a sus componentes estructurales de pared, tal como sucede en otras especies animales (Franklin et al., 2005).

Esta investigación determina el impacto económico asociado a los efectos benéficos del uso de paredes celulares de levaduras desde un enfoque de producción láctea; así como la rentabilidad dentro de una finca lechera promedio en Costa Rica.

## **1.1. Antecedentes**

### **1.1.1. Levaduras vivas**

Las levaduras vivas se catalogan dentro del grupo de los prebióticos por sus características estimulantes de la flora digestiva (Alvarado, 2000), siendo hoy día el *Saccharomyces cerevisiae* el más utilizado en bovinos (Lynch y Martin, 2002). Actualmente existen productos comerciales formulados especialmente para la alimentación animal, en donde cepas específicas de levaduras son multiplicadas en condiciones aeróbicas y, posteriormente, la crema de levadura es separada del medio de cultivo y lavada para remover cualquier residuo de la melaza usada como sustrato (Oriol, 2004).

Estas formulaciones comerciales han demostrado efectos benéficos en el desempeño ruminal (Miller-Webster et al, 2002), promoviendo una disminución en la cantidad de oxígeno libre en rumen que favorece el crecimiento de bacterias celulolíticas productoras de propionato, induciendo un incremento en la cantidad de ácidos grasos volátiles disponibles para el animal (Patton et al., 2006). Conjuntamente, se disminuye la cantidad de bacterias productoras de lactato, reduciendo la incidencia de acidosis ruminal subclínica y clínica (Bayourthe, 2004); lo que incrementa la cantidad y calidad de leche, ganancia de peso, rendimiento en canal y la salud de los animales (Auclair, 2002; Greene y Silva, 2004; Lesmeister et al., 2004; Yaqoob, 2003).

### **1.1.2. Paredes celulares de levaduras**

En estudios recientes, Márquez (2004) demostró que los mananos y  $\beta$ -glucanos, o carbohidratos complejos que se encuentran en gran proporción en las paredes celulares de la levadura (MOS), son capaces de adherirse selectivamente a moléculas de las aflatoxinas, por lo que han sido usados en fórmulas como secuestrantes con excelentes resultados en la industria porcina y avícola (Morantes, 2005), revelando además propiedades inmunoestimulantes directas sobre centros linfoides (Cuarón, 2004).

### **1.1.3. Extracción y concentración de los mananos y $\beta$ -glucanos**

Los MOS se extraen y concentran aprovechando la propiedad de la levadura de producir autólisis, fenómeno que ocurre en condiciones especiales de temperatura y pH o puede ser incluso iniciada por la adición de un activador. Después de la autólisis, el extracto soluble de levadura es separado de las paredes celulares, manteniendo estas su morfología ovoide pero vacías (células fantasmas). Las paredes celulares son luego lavadas y disueltas en una solución de ácido fosfórico y la suspensión es mantenida a baja temperatura para asegurar su conservación. Finalmente el extracto es pasteurizado, secado y almacenado en forma concentrada (Oriol, 2004).

### **1.1.4. Estímulo inmunológico**

Desde el punto de vista inmunológico, los estudios de García et al. (2004), Mao et al. (2005) y Timmerman et al. (2005), muestran un estímulo inespecífico importante por parte de las levaduras y de los extractos de sus paredes en animales monogástricos. Este efecto se logra desde el punto de vista mecánico por exclusión competitiva, al impedir la colonización intestinal por patógenos y mediante el estímulo directo al migrar a Placas de Peyer en el intestino (Martínez et al, 1999). Por ejemplo, Iglesias y Trujado (2000), utilizando *Actinobacillus pleuropneumoniae* inoculado en tracto respiratorio de cerdos, descubrieron que los animales tratados presentaban hasta un 50% menos probabilidades de mostrar síntomas, lo que demuestra que previene inclusive aquellas enfermedades que atacan otros sistemas aparte del digestivo

Por su parte, Franklin et al. (2005) en su experimento demostraron el efecto inmunoestimulante de los mananos utilizando vacunas contra rotavirus. Sus resultados prueban que incluso se mejoran significativamente los títulos de anticuerpos presentes en calostro y, por ende, la inmunidad pasiva de las crías al evaluar los títulos de inmunoglobulinas.

En la ubre, las células blancas de defensa junto a células epiteliales y de descamación componen la porción de las células somáticas, siendo el conteo de éstas (CCS) el parámetro utilizado para medir de forma indirecta el estado de salud de la ubre (Philpot y Nickerson, 2000). Un sistema inmunológico adecuado mejorará por ende los parámetros productivos mientras reduce los costos de medicación y descarte (Timmerman et al., 2005). Esto resulta importante en la industria lechera, donde las enfermedades subclínicas tienen mayor impacto sobre la productividad, siendo la mastitis subclínica con altos CCS el ejemplo más claro (Radostits et al., 2002).

### **1.1.5. Las micotoxinas en la dieta de vacas lecheras**

Según Zaviezo y Cavassini (2007), el concepto generalizado de que los rumiantes son menos susceptibles a los efectos dañinos de las micotoxinas es errado, ya que si bien son capaces de metabolizarlas parcialmente, los metabolitos resultantes pueden ser iguales o más tóxicos que la molécula original. Un claro ejemplo es la aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), la cual se absorbe y rápidamente es metabolizada a aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) en el hígado, excretándose vía leche u orina desde 12 horas después de ingerida y hasta por 4 días, con un promedio de transferencia del 1,7% entre AFB<sub>1</sub> y AFM<sub>1</sub>.

En Estados Unidos, la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA), así como la Comunidad Económica Europea (CEE) limitan la cantidad de aflatoxinas totales por kilogramo de alimento para vacas lecheras en 20 ppb y el nivel de AFM<sub>1</sub> en la leche para consumo humano en 0,5 ppb (Zaviezo y Cavassini, 2007).

## **1.2. Justificación**

### **1.2.1. Importancia**

La industria lechera en Costa Rica no solo provee de trabajo directo e indirecto a miles de personas, sino que además debido al grado de tecnificación alcanzado, suple el total de la demanda interna de producto lácteo. No obstante, se tiene la desventaja de que el país posee un territorio muy limitado y por mucho ineficiente en la producción de granos para formular concentrados, por lo cual la dependencia de subproductos agrícolas y la importación de insumos con altos precios es inevitable (Programa Estado de la Nación, 2005).

No es casualidad por qué la lechería haya sido paulatinamente desplazada por otras labores agrícolas más rentables (Ramírez, 2006), haciendo urgente la investigación e implementación de nuevas opciones productivas que deriven en una mayor rentabilidad de la actividad lechera; ofreciendo también un producto final de mayor calidad al consumidor que de paso sea más competitivo dentro de los mercados internacionales (VandeHaar y St. Pierre, 2006).

### **1.2.2. Hipótesis**

La adición de paredes celulares de levadura con alto contenido de mananos y  $\beta$ -glucanos a la dieta de vacas lactantes tiene efectos positivos sobre volumen de producción, contenido de sólidos lácteos, disminuye los conteos de células somáticas y reduce los niveles de AFM<sub>1</sub> excretada en la leche.

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar el impacto de la adición de carbohidratos complejos de paredes celulares de levaduras (*Saccharomyces cereviceae*) en la ración diaria del alimento para vacas lecheras, sobre el volumen de producción y la calidad láctea, la salud de la ubre y el efecto secuestrante de aflatoxinas.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar el efecto de adicionar un concentrado comercial de paredes celulares de levaduras para uso zootécnico (Safmannan<sup>®</sup>) sobre los parámetros productivos en vacas lecheras: cantidad de leche, porcentajes de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales.

- Determinar el efecto sobre la salud de la ubre, al adicionar a la dieta el concentrado comercial de paredes celulares de levaduras, evaluando los CCS de vacas en diferentes etapas productivas.
- Cuantificar la reducción de AFM<sub>1</sub> en leche, al adicionar el concentrado comercial de paredes celulares de levaduras en la ración diaria de vacas en producción que ingieren niveles importantes de aflatoxinas en la dieta.

## **2. METODOLOGÍA: MÉTODOS Y MATERIALES**

### **2.1. Área de estudio**

Con base en un estudio realizado durante el 2005 por la empresa Dos Pinos a nivel nacional, se identificó a Coronado como la zona con mayor problemática en cuanto a micotoxinas en las raciones ofrecidas a las vacas. Ahí se seleccionaron 5 fincas, específicamente en los distritos de San Rafael, Las Nubes y San Francisco; con rangos de altitud comprendidos entre los 1.750 y 2.000 msnm (Bolaños y Watson, 1993). Los criterios para la selección de fincas fueron: realizar pesas semanales de leche, contar con una base de datos de producción en sistema informatizado VAMPP versión bovino 1.0 y tener disponibilidad de personal para la administración diaria del producto.

### **2.2. Descripción de los animales**

Se utilizaron en total 227 animales de la raza Holstein, entre los 30 y 200 días de lactancia al inicio de la investigación. Como fuente de alimento base se ofreció a todos los animales forraje fresco en modalidad de pastoreo, suplementado dos veces al día con alimento balanceado para vacas en producción y en cada finca se utilizó aleatoriamente subproductos agrícolas como cebada, cáscara de piña, cascarilla de soya y cáscara de banano; todos propensos al crecimiento de hongos capaces de producir altos niveles de aflatoxinas. La ración diaria de suplementos se ofreció dividida en dos porciones, una previo a cada ordeño. Esta se administró mediante un sistema de semi-estabulación, donde los animales son ubicados en hileras y sobre la ración final se colocó el suplemento de MOS.

### **2.3. Manejo experimental**

Durante la fase previa al inicio de la prueba, se analizó la base de datos de cada finca por medio del programa informático VAMPP bovino 1.0, y se determinó los parámetros como: días de lactancia, niveles productivos y CCS actuales. Basado en ello, se seleccionaron entre 30 y 60 animales por finca. El total se distribuyó en dos grupos: un grupo experimental al que se le ofreció el producto (GT) y otro de control (GC); ambos con igual número de individuos equitativamente distribuidos según número de lactancia, días en producción y promedio de leche producida por día.

Se procedió posteriormente a la recolección de muestras iniciales para determinar los niveles de aflatoxinas totales (AT) en suplementos, AFM<sub>1</sub> excretada y calidad de leche, esta última determinada por los porcentajes de sólidos y por el CCS. Posterior al primer muestreo, se inició con la adición del concentrado de paredes celulares en dosis de 10 gr/animal/día en los GT, según recomendación de la casa fabricante. Todos los animales incluidos en el estudio se re-evaluaron a los 21 y 42 días posteriores para calidad de leche; ya que como indica Alvarado (2006), son necesarios como mínimo 15 días de adicionado el concentrado para equilibrar el ambiente ruminal y lograr la estimulación adecuada del sistema inmunológico.

Se repitió el muestreo de todas las fuentes de alimento al cuarto día y a la semana de la llegada, con el fin de determinar la curva de crecimiento en los niveles de AT. Veinticuatro horas después de cada muestreo final de alimento, se colectó una muestra de leche de los 5 animales con las producciones más altas para cada grupo (10 animales en total) para la determinación de niveles de AFM<sub>1</sub>, esto en dos repeticiones: días 1 y 42 del estudio, con el propósito de determinar la curva de excreción de AFM<sub>1</sub> en cada grupo experimental (GT y GC).

#### **2.4. Recolección de datos**

Para el análisis de sólidos lácteos y CCS, se colectaron de las pesadoras Waicato<sup>®</sup> 60 mL de leche en bolsas especiales para dicho fin, durante las dos repeticiones de la pesa diaria para obtener una muestra representativa. Las muestras se conservaron en hieleras con refrigerante hasta transportarlas al laboratorio donde se llevó a cabo los análisis correspondientes. Los CCS se realizaron en el equipo Fossomatic<sup>™</sup> 420, y el análisis de sólidos en el Milko Scan<sup>®</sup> FT-120, ambos ubicados en el Laboratorio de Calidad de Leche de la Planta El Coyol, de La Cooperativa Dos Pinos R.L.

Para la determinación de los niveles de AT, se remitieron 500 gr de cada una de las fuentes de alimento que se ofrecen a los animales, excepto el pasto fresco. En el caso de AFM<sub>1</sub>, se colectaron 60 mL de leche en bolsas estériles. Estas muestras son analizadas en el Laboratorio de

Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), en las instalaciones de la Ciudad para la Investigación de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro de Montes de Oca. Se utilizó la prueba AgraQuant<sup>®</sup> para AT (rango de detección de 1-60 ppb con especificidad del 100%) y AgraQuant<sup>®</sup> M<sub>1</sub> para la leche (sensibilidad >0,005 ppb con especificidad del 100% para AFM<sub>1</sub>). Ambas, ensayos enzimáticos ELISA de la casa comercial Romer Labs<sup>™</sup>.

Adicionalmente, se mantuvo el control de la producción diaria corregida a 305 días (PDC) mediante el programa informático VAMPP bovino 1.0 para todos los animales incluidos en la prueba. La PDC según Vargas y Solano (1995), incluye corrección por los siguientes factores para las razas Holstein y Jersey: grupo racial, zona de vida, efecto de finca, año de parto, longitud de lactancia, número de lactancia, época de parto y día de lactancia; este modelo incluyó como co-variable los días abiertos. Para calcular estos factores de corrección se utilizaron 149.100 registros individuales de leche en un total de 10.000 lactancias en 210 hatos.

## **2.5. Análisis estadístico**

Para la selección de los animales dentro de los grupos de tratamiento y control se utilizó el método pareado al azar que consiste en hacer parejas de los animales más similares entre si y posteriormente al azar se envían uno al GT y el otro al GC.

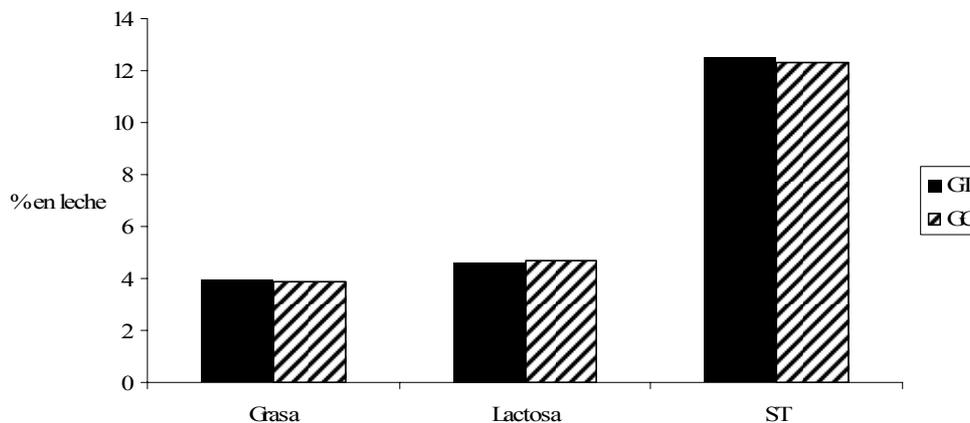
Para la prueba estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un análisis de varianza y comparación de medias en aquellas variables que resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) utilizando el sistema informático Systat versión 6.0 para Windows.

Mediante hojas de cálculo Microsoft Excel 2003, se graficó los análisis comparativos y se evaluó el impacto económico asociado a la administración de MOS.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Impacto sobre la producción y calidad de leche

Los resultados de los análisis estadísticos para calidad de leche se muestran en los anexos 6.1 a 6.12, donde se observa que el uso de MOS no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de grasa, lactosa y sólidos totales ( $p>0,05$ ); no obstante la administración de MOS mostró una tendencia de aumento en los sólidos totales de 0,171% (figura 1).

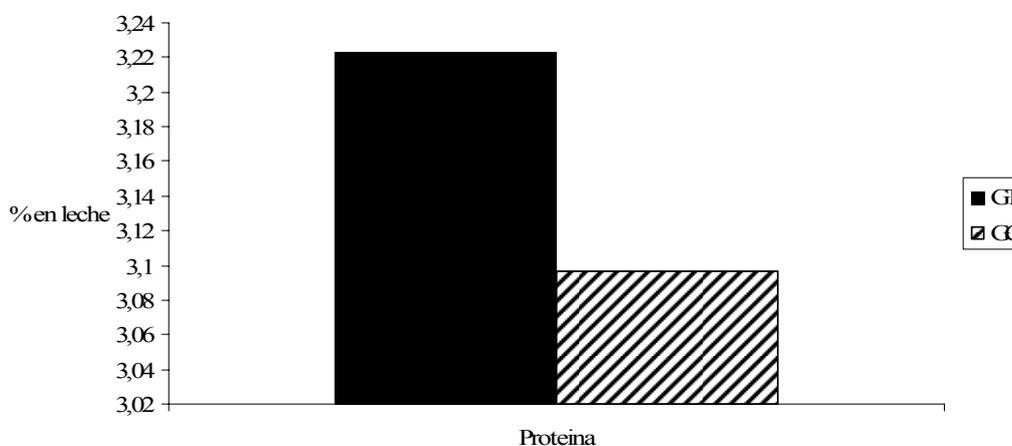


**Figura 1.** Comportamiento de los componentes de la leche ante la aplicación de MOS a la dieta de las vacas.

En el caso del porcentaje de la proteína en leche, la administración de MOS si tiene un efecto estadísticamente significativo ( $p<0,05$ ), donde la inclusión en la dieta incrementó el promedio en 0,126 puntos (figura 2). Este resultado se observó en la totalidad de la población evaluada (5 fincas); sin embargo se debe aclarar que en tres de las cinco fincas la respuesta fue muy marcada y con diferencia estadística, mientras que en las otras dos la intensidad fue menor y no resultó con diferencia estadística aunque si hubo mejora sustancial, lo que reconfirma que la finca tiene un efecto muy marcado sobre el contenido de los componentes de la leche.

Cuando se analizó la PDC por finca, el tratamiento no mostró ningún efecto significativo, lo cual se atribuye al alto coeficiente de variación ( $CV=32\%$ ) que tienen los datos y al reducido tamaño de población; no obstante cuando se agrupan todos los individuos de las 5 fincas separados por

grupo, el tratamiento si muestra un efecto estadísticamente significativo sobre la PDC ( $p < 0,05$ ) con una diferencia entre promedios de 1,31 L a favor del GT (anexos 6.13 y 6.15).



**Figura 2.** Comportamiento de la proteína en leche ante la aplicación de MOS a la dieta de las vacas.

El impacto económico por producción láctea asociado a la administración de MOS en la dosis utilizada se muestra en el cuadro 1, según datos suministrados por Rojas (2007).

**Cuadro 1.** Efecto del uso de MOS sobre la producción de leche y su impacto económico.

	Grasa		Lactosa + Minerales <sup>†</sup>		Proteína	
	GT	GC	GT	GC	GT	GC
Promedio (%)	3,91	3,90	5,32	5,31	3,22	3,10
Precio/Kg (¢)	1.442	1.442	1.173	1.173	1.441	1.441
Monto (¢)	56,35	56,25	62,40	62,29	46,44	44,63
	Monto / L (¢)	Producción (L/día)	Monto/vaca/día (¢)	MOS/vaca/día (¢)		
GT	165,19	31,49	5.201,83	42		
GC	163,17	30,18	4.924,47	0		
Ganancia:	¢235,36 vaca/día					

<sup>†</sup> Para efectos de pago, la empresa Dos Pinos R.L. agrupa el porcentaje de minerales junto a la porción de lactosa para completar los sólidos totales.

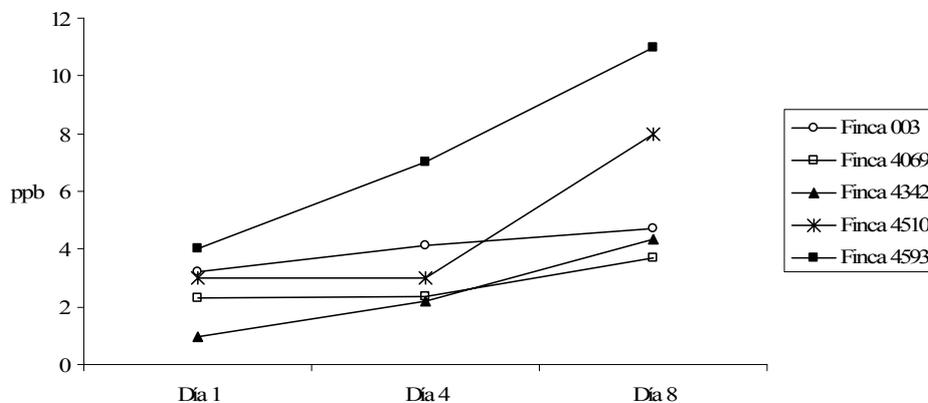
Para la evaluación del efecto sobre el CCS, hubo necesidad de excluir los datos de los individuos con mastitis clínicas y/o conteos superiores a diez millones (GT y GC) ya que la sensibilidad de la prueba esta limitada a ese máximo, por lo tanto se desconoce el número real de la lectura cuando se supera este máximo.

Por tratarse de un rango de valores con un amplio CV (150 – 200%), el análisis se realizó utilizando el logaritmo natural (ln) de las lecturas. Los resultados obtenidos indican que la adición del MOS no posee un efecto significativo ( $p>0,05$ ) (anexo 6.18), aunque al comparar los promedios en números reales de ambos grupos si se nota una tendencia a la disminución en los CCS del GT, que experimentó una reducción en promedio de 57.573 células somáticas. Nuevamente emerge la influencia del efecto finca sobre esta variable, ya que al realizar el análisis por separado, en tres de las cinco se encuentran diferencias significativas ( $p<0.05$ ) a favor del GT y en dos no la hay, pero la variación tan grande entre la población se convirtió en una limitante importante de este experimento.

El impacto económico esta dado por la diferencia entre los promedios (57.573 células somáticas menos en el GT), efectivo en el tanto la finca se encuentre cerca de los límites de bonificación, que varían en rangos de 250.000 células entre uno y otro (Hueckmann, 2007).

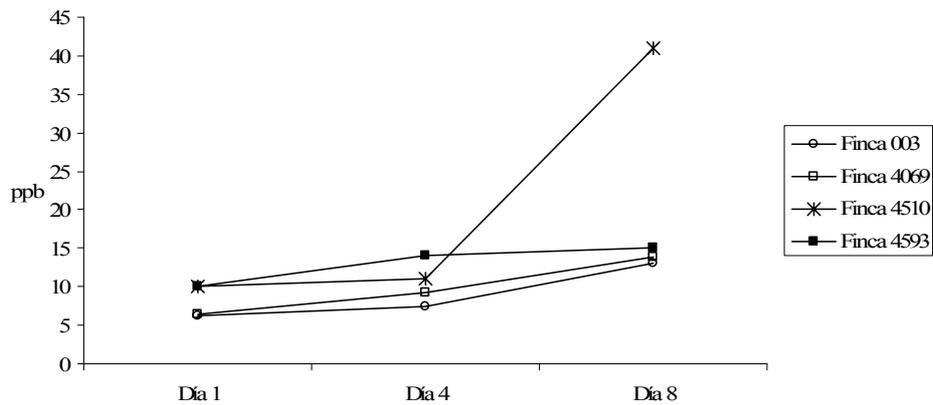
### 3.2. Aflatoxinas totales en los alimentos

El producto más utilizado en la alimentación de vacas lecheras es el concentrado para vacas en producción (anexo 6.23), presente en las 5 fincas. El menor valor registrado fue 2,29 ppb, indicando contaminación desde el momento de manufactura por presencia de hongos en las materias primas o bien prácticas de almacenaje indebidas. En un lapso de 6 días almacenado en la finca llega a aumentar los valores hasta 12 ppb en algunos casos (figura 3).



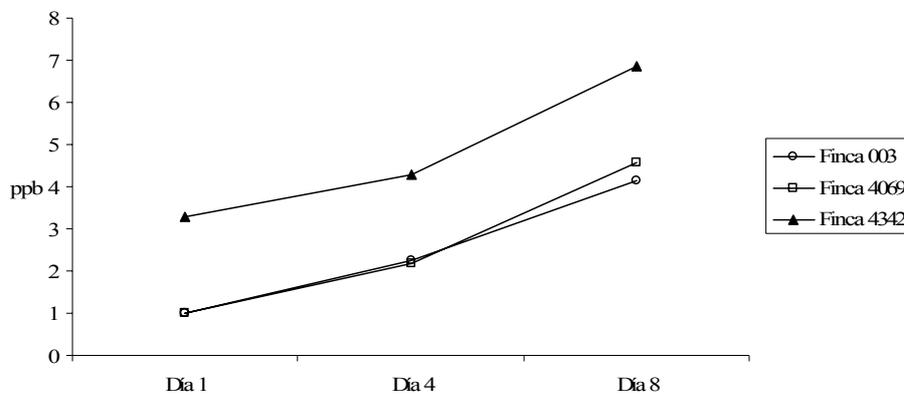
**Figura 3.** Comportamiento de los niveles de AT en el concentrado para vacas en producción, para cada finca durante una semana.

El producto que registró los niveles más altos de AT fue el suplemento nutricional bovino a base de subproductos de naranja (anexo 6.24). La proliferación de aflatoxinas en el proceso de manufactura y almacenamiento previo a la llegada a la finca es alta, registrando valores mínimos de 6,13 ppb y creciendo hasta las 41 ppb en lapsos de una semana, superando el doble del nivel máximo de aflatoxinas por kilogramo de materia seca aceptado por la FDA y la CEE, tal como se muestra en la figura 4.



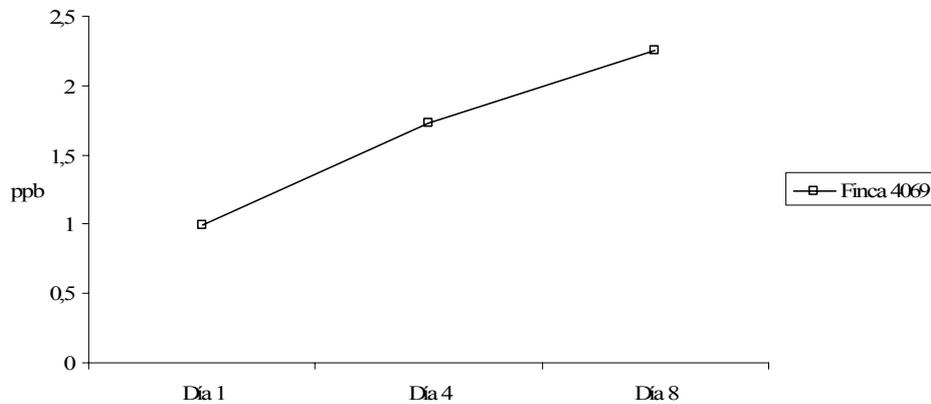
**Figura 4.** Comportamiento de los niveles de AT en el suplemento a base de subproducto de naranja para cada finca durante una semana.

La cáscara de banano cruda mostró un comportamiento similar. La alta humedad de su composición, el almacenamiento a la intemperie y su rápida fermentación, favoreció el crecimiento de hongos *Aspergillus* spp., productores de aflatoxinas. Durante una semana los contenidos de aflatoxinas totales se duplicaron y alcanzaron las 6,86 ppb como mayor valor registrado (figura 5).



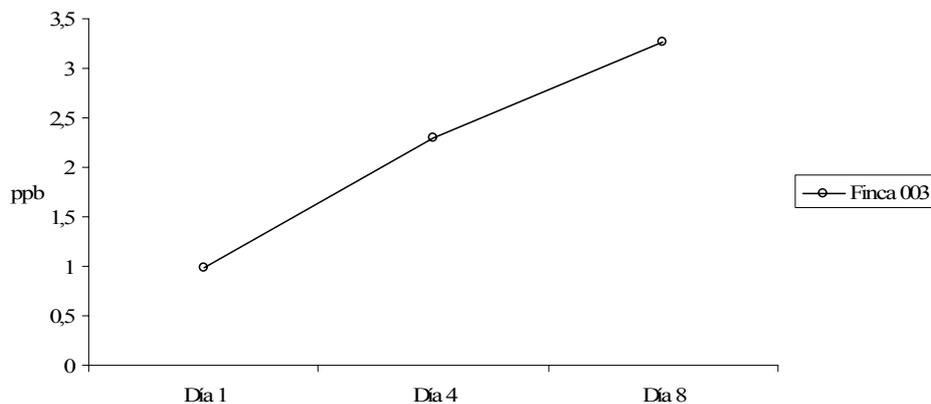
**Figura 5.** Comportamiento de los niveles de AT en la cáscara de banano cruda para cada finca durante una semana.

Al evaluar el comportamiento del contenido de AT en el desecho de cervecería se observó un crecimiento constante, sin embargo los títulos más altos registrados apenas alcanzaron el 10% del límite máximo establecido por la FDA para AT en los alimentos (figura 6).



**Figura 6.** Comportamiento de los niveles de AT para el desecho de cervecería en la finca 4069.

La cascarilla de soya demostró ser muy propensa al crecimiento de hongos capaces de originar niveles elevados de aflatoxinas, llegando en una semana a presentar hasta 4 ppb, o sea un crecimiento del 300% respecto al presentado en el momento de ingresar a la finca (figura 7).



**Figura 7.** Comportamiento de los niveles de AT para la cascarilla de soya en la finca 003.

El tipo de subproducto y suplemento, así como las proporciones dentro de la ración final en la dieta diaria de las vacas varía en cada finca. Esta ración de suplemento y su proporción con respecto a la cantidad de pasto consumido determinó la ingesta total de aflatoxinas (cuadro 2), con datos de materia seca (MS) para cada subproducto obtenidos de Castro (1988). Para efectos de

cálculo, el consumo de materia seca en la ración diaria (MSD) se estimó por igual para vacas tratadas y controles en 16 Kg, con base en el peso de la raza y promedio de producción de la población muestreada según datos de Andrews (2002), tomando en cuenta el bajo contenido de MS en los forrajes de la zona.

**Cuadro 2.** Ingesta total de aflatoxinas según la ración diaria ofrecida en cada finca.

	Finca 003		Finca 4069		Finca 4342		Finca 4510		Finca 4593	
	ppb	Kg (MS)	ppb	Kg (MS)	ppb	Kg (MS)	ppb	Kg (MS)	ppb	Kg (MS)
Concentrado	4,74	5,65	3,7	6,96	4,36	8,44	8	7,57	11	8,35
Subproducto de naranja	13,14	0,87	13,86	1,73	0	0	41	0,87	15	2,59
Cáscara de banano	4,13	1,30	4,58	1,30	6,86	1,04	0	0	0	0
Desecho de cervecería	0	0	2,26	2,60	0	0	0	0	0	0
Cascarilla de soya	3,23	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Ppb totales en base seca de suplementos	49,28		61,56		43,93		96,02		130,80	
AT por Kg de la ración diaria (ppb)	3,29		4,10		2,93		6,40		8,72	
AT consumidas por animal/día (mg)	32,31		51,62		27,78		54,02		95,40	

### 3.3. Efecto sobre los niveles de AFM<sub>1</sub> en leche

Haciendo un análisis individual por finca, para la excreción final se observó que en dos de las cuatro fincas evaluadas hay resultados estadísticamente significativos, en una finca no hay diferencia estadística, pero mostró una clara tendencia a la reducción en la excreción de AFM<sub>1</sub> en leche del GT y en una finca no hay diferencia ni se muestra ninguna tendencia (anexo 6.22).

Cuando se agrupó las 4 fincas (GT y GC por separado) y se aumentó el número de repeticiones no se observó ningún efecto estadísticamente significativo ( $p > 0,05$ ), pero nuevamente se observó un CV de 72%, que junto al bajo número de repeticiones limitó la sensibilidad del análisis estadístico (anexos 6.19 y 6.20).

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Producción láctea

En este trabajo se obtuvo un incremento significativo sobre porcentaje de proteína en leche, con una diferencia de 0,126% a favor del GT ( $p < 0,05$ ). Según Jenkins y McGuire (2006), el componente lácteo más sensible a la manipulación por medio de la dieta es la grasa, la cual puede variarse hasta en un 3%; la proteína tiene una variabilidad media ya que puede variarse en promedio un 0,5%, mientras la lactosa no es manipulable excepto mediante cambios sumamente drásticos en la dieta. Esta respuesta se explica debido a las mejoras tanto del funcionamiento ruminal y del sistema inmunitario, como lo reportan Greene (2002) y Newbold et al. (2002). Este último en especial sostiene que la presencia de levadura en el rumen aumentará la viabilidad bacteriana y por tanto la velocidad de celulolisis, el flujo de proteína bacteriana y así la productividad. Como se observó previamente, cada incremento de 0,1% en la proteína láctea significa un beneficio económico a la finca cercano a  $\phi 150$  (US\$0,30) por cada 100 litros de leche producida (Rojas, 2007).

En este estudio no se encontró diferencia estadística sobre el porcentaje de sólidos, lo cual se atribuye a que el parámetro está compuesto por la suma de los diversos componentes como proteína, grasa, lactosa y minerales. Un incremento significativo solo sobre el porcentaje de proteína se diluye entre la totalidad de los otros componentes y no alcanza a reflejarse en el contenido total de sólidos. Por otra parte, este parámetro está fuertemente influenciado por el efecto genético y el manejo de finca, lo que provoca altos CV en la base de datos, restando posibilidades de encontrar un efecto significativo del tratamiento. Pese a lo anterior, no se debe pasar por alto que existe una tendencia marcada al aumento en los promedios de los diferentes componentes y resulta atractivo desde el punto de vista económico, ya que esto representa mayores precios de venta de la leche y de forma directa una mayor rentabilidad.

La PDC fue otro parámetro que mostró un efecto positivo y estadísticamente significativo, en promedio 1,31 litros superior para el GT. Según Yoon y Stern (1996) y McDonald et al. (1985) el

volumen de producción láctea está en función de la raza, del momento de lactación, del consumo energético y especialmente el grado de hidratación del animal, pero no de pequeñas variaciones en la dieta; además el estrés moderado o enfermedades concomitantes pueden hacer descender la cantidad de leche producida aunque los demás factores se encuentren bien. La diferencia del comportamiento observado en la PDC se explica desde un punto de vista inmunológico, ya que un sistema inmune capacitado responde mejor a los desafíos diarios como estrés climático, patógenos ambientales y padecimientos subclínicos, pues se sabe que dietas con suplementación de mananoligosacáridos incrementan de manera importante la respuesta del sistema inmune humoral, elevando los títulos sanguíneos de inmunoglobulinas o memoria inmunológica (Franklin et al., 2005). Un sistema inmune competente generará un estado de confort sistémico que permite una mejor expresión del potencial productivo del animal (Alvarado, 2007).

Como último factor evaluado en calidad de leche, se observa que el CCS no mostró un descenso estadísticamente significativo para la población total del GT, aunque si hubo tendencia a la baja de 57.573 células en este. La porción de células somáticas se compone en un 90% de leucocitos, macrófagos y neutrófilos, mientras un 10% son células de descamación producto de la regeneración epitelial normal o por procesos infecciosos en la ubre (Hueckmann, 2007; Philpot y Nickerson, 2003), de ahí que sea tomado en cuenta desde los años 80 como un factor para bonificar o castigar la calidad de la leche.

Bradford (2002) sostiene sin embargo, que la salud de la ubre va a depender principalmente de factores de manejo. Una correcta desinfección pre-ordeño, un escurrido completo de la cisterna y de la ubre, un sellado eficiente y una higiene adecuada, así como una máquina de ordeño bien calibrada, son los factores que influyen con más peso en el mantenimiento de bajos CCS, en comparación con cualquier suplemento dietético (LeBlanc et al., 2006).

#### **4.2. Aflatoxinas en los alimentos**

Los resultados respecto a la proliferación de aflatoxinas en los alimentos para vacas lecheras indican un crecimiento acelerado de hongos productores (*Aspergillus* spp y *Penicillium* spp.). El 100% de los suplementos mostraron incrementos importantes de aflatoxinas, incluso el suplemento a base de subproductos de naranja alcanzó el doble de la concentración permitida por la FDA y la CEE.

Es evidente que nuestro país cuenta con condiciones ambientales similares a las descritas por Ominski et al. (1994) y Morantes (2005), las cuales facilitan la proliferación de las especies de hongos productoras de aflatoxinas, favorecidas por otros factores como el contenido de agua del sustrato, estado de las semillas en el caso de granos, aireación deficiente del sitio de almacenamiento, inóculo fúngico, interacciones microbiales y presencia de insectos; factores observados de rutina en las fincas en donde los subproductos agrícolas se mantienen a la intemperie, las bodegas no poseen ventilación, no hay control de insectos, entre otros.

A pesar de lo anterior, por realizarse este estudio en un sistema de pastoreo con suplementación, los animales consumen en total menos de la tercera parte de aflatoxinas permitidas por Kg. de MS, ya que los altos volúmenes de pasto fresco y las bajas raciones de los productos con contaminaciones altas ayudan a controlar la carga total de AT. Sin embargo no se debe bajar la guardia ya que las micotoxinas en los alimentos cobran cada vez más importancia dentro de la medicina veterinaria al incluirse dentro de los paradigmas que buscan la prevención y donde el objetivo final es el consumidor más que el animal (LeBlanc, 2006).

#### **4.3. Impacto sobre la excreción de AFM<sub>1</sub> en leche**

El comportamiento de la AFM<sub>1</sub> es similar en ambos grupos experimentales, lo que significa que no hay un efecto significativo en la reducción de los niveles del metabolito en leche. Según Palmgren y Hayes (1987), la presencia de aflatoxinas en un alimento provocará una excreción de AFM<sub>1</sub> en la leche de las vacas que las consumieron al haber en el rumen una substitución de dos

grupos hidroxilo por un grupo hidronio en la molécula de AFB<sub>1</sub>, pudiéndose relacionar de forma lineal las AT de la ración consumida con los valores excretados.

Al analizar las fincas por separado se observa un efecto estadísticamente significativo en dos de ellas, mientras en las otras dos no hay efecto. El fenómeno está explicado por la metodología de administración de los MOS, ya que en los establecimientos donde no hubo un efecto marcado, la dosis de producto se colocaba sobre una cama de pasto fresco recién cortado que se ofrecía sobre la ración de suplementos, mientras en el otro caso se colocaba sobre el suplemento peletizado a base de naranja. Posterior al inicio del presente experimento, se ha observado en otros trabajos de campo similares que si bien la molécula de mananos es capaz de secuestrar las aflatoxinas hasta por encima del 90% en los alimentos, dichos concentrados necesitan estar en una mezcla homogénea con las fuentes contaminadas para surtir efecto, de manera que entren en contacto con las aflatoxinas y se de la adsorción (Alvarado, 2007).

Un método de aplicación al alimento en donde únicamente se coloca el concentrado de MOS sobre la ración final va a tener un efecto reducido de secuestro, incrementándose el error cuando además se coloca sobre un subproducto poco o nada contaminado como el forraje fresco, o por factores como la presentación del suplemento, ya que si este se encuentra en forma peletizada se disminuye la superficie de exposición y contacto, en comparación con una presentación en polvo o en granos pequeños.

#### **4.4. Conclusiones**

- El uso de MOS en dosis de 10 gr/animal/día genera un incremento estadísticamente significativo en el porcentaje de proteína en leche y la PDC, pero no muestra efectos significativos sobre el porcentaje de grasa, lactosa o sólidos totales, aunque si una tendencia al crecimiento.
- En las condiciones en que se llevo a cabo este estudio, algunas fincas muestran respuestas significativas al uso de MOS para reducir el CCS y otras no, lo que demuestra que este indicador está muy influenciado por otros aspectos como prácticas de ordeño, desinfección, condiciones medio

ambientales, entre otras. Además es un parámetro que mostró mucha variabilidad dentro y entre fincas, por lo tanto se requiere de grandes cantidades de repeticiones para detectar los efectos de un tratamiento. Por otra parte, la suplementación de MOS muestra una clara tendencia a reducir los CCS, lo cual tiene un impacto importante desde el punto de vista económico.

- Los métodos tradicionales de almacenamiento de concentrados y suplementos alimenticios en las fincas lecheras son por mucho ineficientes y promueven la proliferación de hongos productores de micotoxinas que traen los suplementos desde las plantas productoras.

- Los niveles de aflatoxinas en los suplementos para vacas lactantes son altos, no obstante por las prácticas de alimentación utilizadas (pastoreo suplementado) las concentraciones consumidas se encuentran dentro de los límites establecidos, tanto para AT como para AFM<sub>1</sub>.

- Al igual que en el caso del CCS, el efecto de los MOS en el secuestro de aflatoxinas fue heterogéneo. Esto se vincula con la gran variabilidad de los datos dentro y entre fincas, así como el método de aplicación del producto, el cual actúa por contacto directo con la micotoxina, lo que resulta determinante en la funcionalidad del mismo.

#### **4.5. Recomendaciones**

- En cualquier estudio similar sobre la evaluación de la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche y/o aflatoxinas en suplementos de la dieta de ganado lechero, se recomienda aumentar el número de repeticiones por finca y el número de fincas, debido a los altos CV que se encontraron en este tipo de datos.

- Se recomienda el desarrollo de un trabajo que evalúe los mismos parámetros de aflatoxinas, pero llevado a cabo en establecimientos donde el concentrado para vacas en producción lechera se mantenga en silos de metal; por mucho más propensos a la proliferación de hongos y cada vez más comunes en nuestro medio.

- En estudios similares donde se evalúen impactos en CCS, se recomienda trabajar periodos de tiempo mayores, en fincas con un manejo sumamente constante y con la totalidad de la población, de

manera que el impacto se vea reflejado sobre las gráficas de calidad de leche para la finca en un periodo anual, funcionando los periodos anteriores como controles.

## 5. FUENTES CITADAS

- Almeida, R. & Monteiro, J.R. 2004. Efecto de la suplementación con levadura sobre la producción y calidad de leche de vacas de mediana producción. Pp 3-4 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Alvarado, E. 2000. Efecto de Diferentes levaduras sobre la producción lechera en vacas bajo condiciones de pastoreo. Pp 4 *In* IV Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Querétaro, México.
- Alvarado, E. 2006. Entrevista con Eladio Alvarado Ugalde M.Sc. Director Técnico de Saf Agri para México, Centroamérica y Área Andina. Jueves, 23 de marzo.
- Alvarado, E. 2007. Entrevista con Eladio Alvarado Ugalde M.Sc. Director Técnico de Saf Agri para México, Centroamérica y Área Andina. Martes, 7 de febrero.
- Andrews, A., (ed). 2002. The Health of Dairy Cattle. 1° ed. Blackwell Science Editorial. Londres, Inglaterra.
- Auclair, E. 2002. BIOSAF<sup>®</sup> utilizado como un aditivo en el alimento: resumen de pruebas europeas. Pp 14 *In* V Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Guadalajara, México.
- Bayourthe, C. 2004. El papel de BIOSAF<sup>®</sup> SC 47 como un aditivo que estabiliza el pH ruminal: un enfoque termodinámico. Pp 3-4 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Beharka, A., T. G. Nagaraja, J. L. Morrill, & G. A. Kennedy. 1998. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81:1946-1955.
- Bolaños, R., y V. Watson. 1993. Mapa ecológico de Costa Rica, provincia de San José. Centro Científico Tropical (CCT). San José, Costa Rica.

- Bradford, S. (ed) 2002. Large Animal Internal Medicine. 3° ed. Editorial Mosby. Missouri, Estados Unidos de Norteamérica.
- Brufau, J. 1999. Prohibición de aditivos promotores del crecimiento: ¿nuevo modelo europeo de ganadería?. Pp 1 *In* II Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Guadalajara, México.
- Castro, A. 1988. Producción Bovina. 1° ed. Editorial EUNED. San José, Costa Rica.
- Cuarón, J.A. 2004. Un uso inteligente de los aditivos promotores del crecimiento. Pp 3 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Dann, H. M., J. K. Drackley, G. C. McCoy, M. F. Hutjens, & J. E. Garrett. 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83:123-127.
- Franklin, S.T., M.C. Newman, K.E. Newman, & K.I. Meek. 2005. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *J. Dairy Sci.* 88:766-775.
- García, O., Rojas, R., Preciado, T., Gómez, G., García, E., Bernal, S., Cantó, A. & Rodríguez C. 2004. Efectos de *Sacharomyces cerevisiae* proporcionada vía oral sobre la inmunidad contra una vacuna inactivada contra la anaplasmosis bovina. Pp 2-4 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Greene, L.W. 2002. Producción de ganado de carne en lote de engorda y pastoreo en los Estados Unidos y el uso de *Saccharomyces cerevisiae* para mejorar la eficiencia en la producción. Pp 5 *In* V Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Guadalajara, México.

- Greene, L.W. & Silva J.C. 2004. Comportamiento del ganado alimentado con levadura. Pp 3 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Hildabrand, B., Neill, C., Burkey, T., Dritz, S., Johnson, B.J. & Minton, J.E., 2004. Efecto de la levadura sobre el desempeño productivo de lechones y su capacidad de adhesión de diferentes variedades de *Salmonella*. Pp 1 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Hueckmann, F. (2007). Entrevista con el Dr. Frank Hueckmann Voss PhD. Barva, Heredia. Sábado, 10 de febrero.
- Hruby, M. 2005. Las enzimas en el alimento y la betaína ayudan a reemplazar AGPs. *Avic. Prof.* 23:22-23.
- Iglesias, G. y Trujado, M. 2000. Disminución del Impacto Negativo en la Producción Asociado con la Infección con *Actinobacillus Pleuropneumoniae* en cerdos en crecimiento. Pp 4 *In* III Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Querétaro, México.
- Jenkins T.C. & M.A. Mc Guire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J. Dairy Sci.* 89:1302-1310.
- LeBlanc, S., K. Lissemore, D. Kelton, T. Duffield & K. Leslie. 2006. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1267-1279.
- Lesmeister, K. E., A. J. Heinrichs, & M. T. Gabler. 2004. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 87:1832-1839.
- Lynch, H. A., & S. A. Martin. 2002. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Dairy Sci.* 85:2605-2608.

- Mao, X.F., X.S. Piao, C.H. Lai, D.F. Li, J.J. Xing & B.L. Shi. 2005. Effects of  $\beta$ -glucan obtained from the chinese herb *Astragalus membranaceus* and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal and somatotropic responses of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 83:2775-2782.
- Márquez, R. 2004. Estudio comparativo de la inhibición del efecto hiperestrogénico de la zearalenona en cerdas jóvenes, por la adición de secuestrantes comerciales a dietas contaminadas naturalmente con zearalenona. Pp 1-4 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Martínez, A., L. E. Zapata, J. Sierra, M. P. Pérez, R. P. Pradal, R. Mendoza, M.O. Velásquez & J. A. Cuarón. 1999. Ileitis, intestinal microflora and performance of growing-finishing pigs fed *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Anim. Sci.* 78, Suppl. 1: 1296.
- Mc Donald, P., R. Edwards, & J. Greenhalgh. 1985. *Animal Nutrition*. Longman Group Limited. Estados Unidos de Norteamérica.
- Miller-Webster, T., W. H. Hoover, M. Holt, & J. E. Nocek. 2002. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 85:2009-2014.
- Morantes, G. 2005. Manejo del riesgo en la preservación de la calidad de los granos. *Avic. Prof.* 23:12-13.
- Navarro, A. 2006. Producción mundial en granos: ¿son tiempos de vacas flacas? *Threats & Opportunities*. Nbr. 4.
- Newbold, C., A. Olvera y K. Hillman. 2002. Levaduras en el rumen: nuevas prioridades y nuevas oportunidades. Pp 2 *In* V Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Guadalajara, México.
- Ominski, K., R. Marquardt, R. Sinha, & D. Abramson. 1994. Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi. pp. 287–312. *In* J. Miller & H. Trenholm, (eds).

- Mycotoxins in Grain: Compounds Other than Aflatoxin. Eagan Press. Minnesota, Estados Unidos de Norteamérica.
- Oriol, E. 2004. SAF-Mannan<sup>®</sup>: Origen, producción y análisis. Pp. 1-4 *In* VI Seminario Internacional. Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Veracruz, México.
- Palmgren, M. & A. Hayes. 1987. Aflatoxin in food. pp. 65-95. In P. Krogh (ed). Mycotoxins in Food. Academic Press, New Cork, Estados Unidos de Norteamérica.
- Patton, J., D. Kenny, J. Mee, F. O'Mara, D. Wathes, M. Cook & J. Murphi. 2006. Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1478-1487.
- Philpot, W. & S. Nickerson. 2000. Ganando la lucha contra la mastitis. Westfalia Surge Inc. Illinois, Estados Unidos de Norteamérica.
- Programa Estado de la Nación, 2005. Programa Estado de la Nación en Desarrollo Humano Sostenible. Decimoprimer Informe. San José, Costa Rica.
- Radostits, O., C. Gay, D. Blood, & K. Hinchcliff. 2002. Medicina Veterinaria: tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol. I y II. 9° ed. Mc Graw Hill. Madrid, España.
- Ramírez, A., 2006. Entrevista con el Dr. Adriano Ramírez Montero M.V.Z. Pacayas, Cartago. Sábado, 7 de enero.
- Rojas, M. 2007. Entrevista con el Dr. Mariano Rojas González. Supervisor de Calidad de Leche, Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Martes, 9 de enero.
- Timmerman, H, L. Mulder, H. Everts, D.C. van Espen, E. van der Wal, G. Klaassen, S.M.G. Rouers, R. Hartemink, F.M. Rombouts & A.C. Beynen. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.* 88:2154-2165.
- VandeHaar, M & N. St. Pierre. 2006. Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. *J. Dairy Sci.* 89:1280-1291.

- Vargas, B. y P. Solano. 1995. Cálculos de factores de corrección para producción diaria de leche en ganado lechero de Costa Rica. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 3:101.
- Yaqoob, P. 2003. Fatty acids as gatekeepers of immune cell regulation. Trends Immunol. 24:639-645.
- Yoon, I. K., & M. D. Stern. 1996. Nutrition, feeding, and calves: effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. J. Dairy Sci. 79:411-417.
- Zaviezo, D. & P. Cavassini. 2007. Eficacia de myco-ad en disminuir la presencia de aflatoxina M1 leche [en línea]. [www.engormix.com/eficacia\\_mycodisminuir\\_s\\_articulo\\_1050\\_MYC.htm](http://www.engormix.com/eficacia_mycodisminuir_s_articulo_1050_MYC.htm). (Consulta: 10 de enero de 2007).

## 6. ANEXOS

### 6.1. Análisis estadístico para la producción de grasa en valores porcentuales para cada grupo experimental.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>	<b>Total</b>
# Casos	343	338	681
Mínimo	2,05	1,23	1,23
Máximo	9,37	9,00	9,37
Media	3,73	3,77	3,74
Promedio	3,91	3,90	3,91
Dv. St.	0,97	0,97	0,97
C.V.	0,25	0,25	0,25

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.2. Análisis estadístico para la producción de grasa en valores porcentuales para cada finca.

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
# Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72
Mínimo	3,17	2,11	2,08	1,62	2,05	1,23	2,55	3,03	2,49	2,33
Máximo	9,37	9,00	7,94	7,57	5,29	7,11	7,03	5,45	8,38	5,53
Media	4,42	4,29	3,77	3,86	3,51	3,60	3,90	4,04	3,43	3,53
Promedio	4,60	4,42	3,88	3,95	3,56	3,59	4,02	4,06	3,55	3,56
Dv. St.	1,01	1,10	1,06	1,16	0,69	0,86	0,76	0,56	0,80	0,58
C.V.	0,22	0,25	0,27	0,29	0,19	0,24	0,19	0,14	0,23	0,16

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.3. Prueba de T para el factor grasa en valores porcentuales.

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>		<b>Total</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
#Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72	343	338
Prom	4,60	4,42	3,88	3,95	3,57	3,60	4,02	4,06	3,55	3,56	3,91	3,90
Dv. St.	1,01	1,16	1,06	1,16	0,69	0,87	0,76	0,56	0,79	0,58	0,97	0,97
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,30		0,70		0,24		0,77		0,95		0,92	
D.Prom	0,18		-0,07		-0,03		-0,04		-0,07		0,01	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

#### 6.4. Análisis estadístico para la producción de lactosa en valores porcentuales para cada finca.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>	<b>Total</b>
# Casos	343	338	681
Mínimo	2,92	2,73	2,73
Máximo	5,60	8,81	8,81
Media	4,70	4,75	4,73
Promedio	4,65	4,68	4,67
Dv. St.	0,34	0,47	0,41
C.V.	0,07	0,10	0,09

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

#### 6.5. Análisis estadístico para la producción de lactosa en valores porcentuales para cada grupo experimental.

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
# Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72
Mínimo	2,95	2,97	3,80	2,73	3,64	4,06	2,92	3,64	2,92	3,53
Máximo	5,20	8,81	5,04	5,20	5,60	5,25	5,16	8,47	5,09	5,16
Media	4,65	4,66	4,59	4,53	4,78	4,90	4,63	4,81	4,83	4,81
Promedio	4,59	4,61	4,56	4,50	4,75	4,79	4,52	4,77	4,79	4,77
Dv. St.	0,33	0,68	0,29	0,36	0,31	0,29	0,42	0,67	0,28	0,23
C.V.	0,07	0,15	0,06	0,08	0,07	0,06	0,09	0,14	0,06	0,05

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

#### 6.6. Prueba de T para el factor lactosa en valores porcentuales.

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>		<b>Total</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
#Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72	343	338
Prom	4,59	4,606	4,557	4,508	4,751	4,796	4,4	4,2	4,75	4,72	4,651	4,679
D.St.	0,33	0,675	0,289	0,362	0,316	0,287	0,4521	0,4772	0,4788	0,4769	0,338	0,471
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,86		0,34		0,37		0,04		0,65		0,38	
D.Prom	-0,02		0,05		-0,05		0,25		0,02		-0,03	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.7. Análisis estadístico para la producción de proteína por grupo experimental en valores porcentuales

	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>	<b>Total</b>
# Casos	343	338	681
Mínimo (%)	2,390	2,160	2,16
Máximo (%)	6,340	6,040	6,340
Media (%)	3,090	3,010	3,060
Promedio (%)	3,223	3,097	3,161
Dv. St. (%)	0,508	0,403	0,463
C.V.	0,158	0,130	0,146

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.8. Análisis estadístico para la producción de proteína por finca en valores porcentuales

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
# Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72
Mínimo	2,64	2,52	2,56	2,29	2,39	2,44	2,41	2,72	2,51	2,16
Máximo	4,96	6,04	4,83	4,79	3,88	3,38	4,61	3,89	6,34	3,70
Media	3,17	3,18	3,35	3,12	3,01	2,93	3,25	3,14	3,06	2,89
Promedio	3,28	3,32	3,46	3,15	3,02	2,93	3,26	3,15	3,07	2,94
Dv. St.	0,46	0,55	0,63	0,42	0,30	0,21	0,45	0,28	0,47	0,26
C.V.	0,14	0,16	0,18	0,13	0,10	0,07	0,14	0,09	0,15	0,09

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.9. Resultados de la prueba de T para el factor proteína, agrupado por tratamiento

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>		<b>Total</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
#Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72	343	338
Prom	3,28	3,32	3,47	3,16	3,03	2,94	3,26	3,16	3,08	2,94	3,22	3,10
D.St.	0,46	0,55	0,63	0,42	0,31	0,22	0,46	0,29	0,47	0,27	0,51	0,40
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,65		0,00		0,04		0,21		0,03		0,00	
D.Prom	-0,39		0,31		0,91		0,10		0,13		0,13	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.10. Análisis estadístico para la producción de sólidos totales por grupo experimental en valores porcentuales

	Tratamiento	Control	Total
# Casos	343	338	681
Mínimo	9,59	2,86	2,86
Máximo	18,75	18,34	18,75
Media	12,22	12,21	12,22
Promedio	12,47	12,30	12,38
Dv. St.	1,23	1,32	1,29
C.V.	0,10	0,11	0,10

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.11. Análisis estadístico para la producción de sólidos totales por finca en valores porcentuales

	Finca 003		Finca 4069		Finca 4342		Finca 4510		Finca 4593	
	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.
# Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72
Mínimo	10,24	10,44	10,15	9,58	9,59	9,21	10,66	2,86	10,39	10,36
Máximo	18,75	18,34	17,09	17,53	14,07	15,13	15,23	13,73	17,60	14,29
Media	13,05	12,65	12,53	12,28	11,86	11,90	12,39	12,57	11,97	11,80
Promedio	13,10	12,95	12,60	12,40	11,93	11,93	12,63	12,33	12,05	11,92
Dv. St.	1,29	1,41	1,43	1,49	0,92	1,05	0,99	1,61	1,02	0,77
C.V.	0,10	0,11	0,11	0,12	0,08	0,09	0,79	0,13	0,08	0,06

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

### 6.12. Resultados de la prueba de T para el factor sólidos totales, agrupado por tratamiento

	Finca 003		Finca 4069		Finca 4342		Finca 4510		Finca 4593		Total	
	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.
#Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72	343	338
Prom	13,11	12,96	12,60	12,41	11,93	11,93	12,63	12,33	12,05	11,93	12,45	12,31
D.St.	1,29	1,41	1,43	1,49	0,91	1,04	0,99	1,61	1,02	0,77	1,23	1,32
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,54		0,65		0,99		0,87		0,39		0,33	
D.Prom	0,14		0,19		0,00		0,29		0,12		0,14	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.13. Análisis estadístico para la PDC a 305 días por grupo experimental en litros**

	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>
# Casos	340	337
Mínimo	4,00	2,60
Máximo	65,90	66,00
Media	31,15	30,80
Promedio	31,48	30,17
Dv. St.	9,48	9,69
C.V.	0,30	0,32

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.14. Análisis de varianza para la PDC a 305 días por finca en litros**

<b>Variable dependiente: PDC</b>				
<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Promedio-cuadrados</b>	<b>F-radio</b>	<b>p</b>
Finca	264,48	264,48	3,55	0,05
Tratamiento	1256,94	1256,94	170,85	0,00

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.15. Resultados de la prueba de T para la PDC a 305 días, agrupado por tratamiento**

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
#Casos	69	70	80	80	73	73	44	42	74	72
Prom	21,85	21,88	36,45	34,36	36,96	35,51	29,13	27,47	31,10	29,77
Dv.St.	6,52	7,57	10,02	11,06	7,84	7,28	8,38	8,28	4,39	6,18
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,97		0,21		0,24		0,35		0,13	
D.Prom	-0,03		2,08		1,45		1,66		1,33	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.16. Análisis estadístico para el Ln del conteo de células somáticas por grupo experimental**

	<b>Tratamiento</b>	<b>Control</b>	<b>Total</b>
# Casos	339	335	674
Mínimo	9,47	9,10	9,10
Máximo	15,14	15,90	15,90
Media	12,13	11,93	12,01
Promedio	12,10	12,08	12,90
Dv. St.	1,27	1,26	1,27
C.V.	0,10	0,10	0,10

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.17. Análisis estadísticos para el Ln del conteo de células somáticas divididos por finca**

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
# Casos	69	69	80	80	72	73	44	42	74	71
Mínimo	10,12	10,27	9,90	10,27	9,54	9,90	10,34	10,43	9,47	9,10
Máximo	15,14	15,50	14,89	15,90	14,91	14,61	14,82	15,11	15,14	14,90
Media	12,59	12,42	12,03	12,27	12,12	11,77	12,57	11,89	10,80	11,35
Promedio	12,66	12,61	12,14	12,54	12,08	11,73	12,57	12,10	11,26	11,42
Dv. St.	1,17	1,15	1,15	1,34	1,14	1,10	1,23	1,00	1,22	1,17
C.V.	0,09	0,92	0,09	0,11	0,09	0,09	0,09	0,08	0,10	0,10

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.18. Resultados de la prueba de T para el factor Ln de conteo de células somáticas, agrupado por tratamiento**

	<b>Finca 003</b>		<b>Finca 4069</b>		<b>Finca 4342</b>		<b>Finca 4510</b>		<b>Finca 4593</b>		<b>Total</b>	
	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>	<b>G.T</b>	<b>G.C.</b>
#Casos	71	70	80	81	73	73	44	42	75	72	343	338
Prom	4,60	4,42	3,88	3,94	3,56	3,59	4,02	4,06	3,54	3,55	3,90	3,90
Dv.St.	1,00	1,16	1,05	1,16	0,69	0,86	0,75	0,56	0,79	0,57	0,96	0,97
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,30		0,70		0,24		0,77		0,95		0,91	
D.Prom	0,18		-0,06		-0,03		-0,04		-0,01		0,00	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.19. Análisis estadístico para la concentración de AFM<sub>1</sub> en el GC**

	Control 1	Control 2	Ingesta	Excreción Final
# Casos	15	20	20	20
Mínimo	4,98	4,99	0,62	5,00
Máximo	38,48	35,08	8,72	28,26
Rango	33,50	30,09	8,09	23,26
Media	10,95	6,74	4,19	15,11
Promedio	13,49	11,67	4,43	16,08
Dv. St.	9,61	8,95	3,02	7,54
Varianza	92,26	80,03	9,11	56,84
C.V.	0,71	0,77	0,68	0,47

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.20. Análisis estadístico para la concentración de AFM<sub>1</sub> en el GT**

	Control 1	Control 2	Ingesta	Excreción Final
# Casos	15	20	20	19
Mínimo	4,99	4,99	0,62	4,97
Máximo	26,39	48,41	8,72	29,33
Rango	21,40	43,42	8,09	24,36
Media	10,93	8,69	4,19	7,85
Promedio	12,84	14,50	4,43	12,28
Dv. St.	6,88	13,96	3,02	8,88
Varianza	47,30	194,97	9,11	78,82
C.V.	0,54	0,96	0,68	0,72

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.21. Análisis de varianza para la concentración de AFM<sub>1</sub> en leche**

Variable dependiente: PDC				
Fuente	Suma de cuadrados	Promedio-cuadrados	F-radio	p
Finca	138,07	138,07	2,08	0,16
Tratamiento	104,94	104,94	1,58	0,22

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.22. Resultados de la prueba de T para la concentración de AFM<sub>1</sub> en leche**

	Finca 003		Finca 4069		Finca 4342		Finca 4593	
	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.	G.T	G.C.
#Casos	4	5	5	5	5	5	5	5
Prom	25,28	24,63	15,11	19,52	6,36	11,17	4,98	9,00
Dv.St.	3,16	4,79	7,41	4,94	1,75	2,72	0,01	4,06
%Conf	95	95	95	95	95	95	95	95
p	0,81		0,299		0,01		0,05	
D.Prom	0,65		-4,42		-4,81		-4,02	

Resultados obtenidos mediante el software Systat 6.0 con los datos generados durante la investigación.

**6.23. Ingredientes y análisis garantizado por el fabricante del alimento concentrado para vacas lecheras de alto valor genético para producción láctea.**

**Ingredientes:** maíz, deshidratados de destilería de maíz, cascarilla de soya, harina de soya, semolina de arroz, gluten de maíz, acemite de trigo, salvado de trigo, pulpa de naranja, semilla de algodón, grasa sobrepasante, melaza de caña, carbonato de calcio, sal común, fosfato monocálcico, carbonato de hierro, sulfato de cobre, óxido de zinc, óxido de manganeso, sulfato de cobalto, selenito de sodio, óxido de manganeso y monensina sódica.

**Análisis Garantizado**

Humedad	Máximo	13%
Proteína cruda	Mínimo	16%
Extracto etéreo	Mínimo	3%
Fibra cruda	Máximo	12%
Fibra neutro detergente	Máximo	20%
Fibra ácido detergente	Máximo	10%
Energía digestible	Mínimo	3400 Kcal/Kg
Calcio	Mínimo – Máximo	0,8 – 1,2%
Fósforo	Mínimo	0,6%
Sal común	Mínimo – Máximo	0,4 – 0,7%

**6.24.** Ingredientes y análisis garantizado por el fabricante del suplemento alimenticio peletizado para bovinos a base de subproductos de naranja.

---

**Ingredientes:** subproductos de la industrialización de la naranja, incluyendo pulpa y cáscara.

---

**Análisis Garantizado**

---

Humedad	Máximo	13,5%
Proteína cruda	Mínimo	5,5%
Extracto etéreo	Mínimo	1,5%
Fibra cruda	Máximo	16%
Energía digestible	Mínimo	2850 Kcal/Kg
Calcio	Mínimo – Máximo	1,2 – 3 %
Fósforo	Mínimo	0,1%

---