

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**RENDIMIENTO PRODUCTIVO E INTEGRIDAD ÓSEA DE  
POLLOS DE CARNE EN RESPUESTA A SUPLEMENTACION  
DIETARIA CON DIFERENTES FUENTES DE FITASA  
COMERCIAL**

**Presentada por:**

**JOSÉ VIRGILIO AGUILAR VÁSQUEZ**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

**Lima - Perú**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“RENDIMIENTO PRODUCTIVO E INTEGRIDAD ÓSEA DE  
POLLOS DE CARNE EN RESPUESTA A SUPLEMENTACION  
DIETARIA CON DIFERENTES FUENTES DE FITASA  
COMERCIAL”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**JOSE VIRGILIO AGUILAR VÁSQUEZ**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Mg.Sc. Víctor Vergara Rubín  
**PRESIDENTE**

Ph.D. Carlos Vilchez Perales  
**PATROCINADOR**

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco  
**MIEMBRO**

Mg.Sc. Pedro Ciriaco Castañeda  
**MIEMBRO**

## **AGRADECIMIENTO**

- A la Universidad Nacional Agraria La Molina, por acogerme en su claustro y ser parte de la familia molinera, orgullo de la ciencia y el desarrollo agropecuario del país.
- A los profesores de la Escuela de Post Grado, especialidad de Nutrición, por brindarme todas sus sapiencias y consejos, contribuyendo a mi fortalecimiento académico.
- Al Dr. Carlos Vilchez Perales, Coordinador de la especialidad de Nutrición, por su patrocinio, enseñanzas y generosa amistad.
- A la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por brindarme todas las facilidades y ayuda económica pertinente durante mi permanencia en las aulas.
- A la empresa ILENDER PERU S. A. por el financiamiento del presente experimento.
- A la Unidad Experimental de Avicultura de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por todas las facilidades brindadas en la ejecución del estudio.
- Al Laboratorio Nutricional de Alimentos de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por los análisis necesarios realizados.
- A Milagros Pariona y Patricia Hinostroza, por su colaboración en la ejecución de la prueba.
- A la memoria de mi Padre y también a mi Madre por todo el amor que me brindan.

## **DEDICATORIA**

Con mucho amor y cariño dedico este trabajo de investigación a la memoria de mi padre Segundo Virgilio, por todo cuanto me dio en su vida, enseñanzas, consejos, valores y sobre todo amor.

A mi madre, Lorenza, que con todo su amor me inculcó valores y virtudes para ser un hombre de bien.

A Jessica por toda su paciencia, comprensión y amor incondicional durante muchos años juntos.

A mi hija Litzy Daniela, la mejor bendición de Dios.

## INDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. El fósforo como nutriente	3
2.2. Presencia y estructura del fitato	3
2.3. Biodisponibilidad del fósforo fítico	4
2.4. El ácido fítico y la eficacia de la fitasa	5
2.5. Fitasas	7
2.5.1. Efectos fitasas sobre la digestibilidad de nutrientes	8
2.5.2. Efectos fitasas en la mejora de la biodisponibilidad de fósforo	8
2.5.3. Efectos fitasas en el crecimiento y la utilización de nutrientes	9
2.5.4. Efectos fitasas sobre el rendimiento y composición corporal	9
2.5.5. Efectos fitasas sobre el contenido de ceniza de los huesos	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Lugar y duración	15
3.2. Instalaciones y equipos	15
3.3. Animales experimentales	16
3.4. Tratamientos	16
3.5. Dietas experimentales	17
3.6. Alimentación	17
3.7. Mediciones	17
3.7.1. Rendimiento productivo	17
3.7.1.1. Ganancia de peso	17
3.7.1.2. Consumo de alimento	17
3.7.1.3. Conversión alimenticia acumulada	19
3.7.1.4. Índice de eficiencia productivo europeo	19

3.7.1.5. Rendimiento de carcasa	19
3.7.1.6. Rendimiento de piernas	19
3.7.1.7. Porcentaje de mortalidad	19
3.7.2. Características óseas de la tibia	20
3.7.2.1. Determinación de ceniza	20
3.7.3. Características morfométricas de la tibia	20
3.7.3.1. Peso del hueso	20
3.7.3.2. Largo	20
3.7.3.3. Diámetro de diáfisis	20
3.7.3.4. Volumen	20
3.7.3.5. Índice de forma	21
3.7.4. Indicadores de mineralización ósea de la tibia	21
3.7.4.1. Densidad	21
3.7.4.2. Índice modificado de Seedor	21
3.7.4.3. Índice de Quetelet	21
3.7.4.4. Índice de robusticidad	22
3.8. Diseño estadístico	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
V. CONCLUSIONES	38
VI. RECOMENDACIONES	39
VII. BIBLIOGRAFÍA	40
VIII. ANEXOS	49

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>Cuadro 1:</b> Contenido de fósforo fítico y actividad fitasa de algunos ingredientes.	4
<b>Cuadro 2:</b> Biodisponibilidad del fósforo para cerdos y fósforo no fítico para aves.	5
<b>Cuadro 3:</b> Composición, valores nutricionales calculados y nutrientes analizados de las dietas normal y deficiente en fósforo.	18
<b>Cuadro 4:</b> Comportamiento productivo de pollos de carne alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasa (Período de 1 a 28 días de edad).	24
<b>Cuadro 5:</b> Rendimiento de carcasa y piernas de pollos de carne de 28 días de edad alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasas.	29
<b>Cuadro 6:</b> Características de tibias de pollos de carne de 28 días de edad alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasas.	31
<b>Cuadro 7:</b> Porcentaje relativo, respecto al control positivo, de peso vivo, rendimiento de carcasa y contenido de ceniza en tibias de los animales experimentales.	33
<b>Cuadro 8:</b> Respuesta de las características morfométricas de las tibias de pollos de carne de 28 días de edad.	34
<b>Cuadro 9:</b> Respuesta del grado de mineralización de las tibias de pollos de carne de 28 días de edad.	36

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>Anexo I:</b> Certificado de análisis de la fitasa A: ABTUSA	50
<b>Anexo II:</b> Certificado de análisis de la fitasa B: LUMIPHYTASE	51
<b>Anexo III:</b> Ficha técnica de la fitasa C: NATUZYME QP10	52
<b>Anexo IV:</b> Ficha técnica de la fitasa D: CHALLENGE	53
<b>Anexo V:</b> Requerimientos nutricionales para pollos de carne Cobb-500 (2008)	54
<b>Anexo VI:</b> Incremento de peso acumulado semanal de los pollos (g/ave)	55
<b>Anexo VII:</b> Consumo de alimento acumulado semanal de los pollos (g/ave)	56
<b>Anexo VIII:</b> Conversión alimenticia acumulada semanal de los pollos	57
<b>Anexo IX:</b> Peso (mg) y Largo (mm) de la tibia derecha a los 28 días	58
<b>Anexo X:</b> Diámetro de diáfisis (mm) y Volumen (cm <sup>3</sup> ) de la tibia derecha a los 28 días	59
<b>Anexo XI:</b> Índice de forma (mm) y Densidad (mg/cm <sup>3</sup> ) de la tibia derecha a los 28 días	60
<b>Anexo XII:</b> Índice de Seedor (mg/mm) e Índice de Quetelet (mg/mm <sup>2</sup> ) de la tibia derecha a los 28 días	61
<b>Anexo XIII:</b> Índice de Robusticidad (mm/g <sup>1/3</sup> ) de la tibia derecha a los 28 días	62

# **“RENDIMIENTO PRODUCTIVO E INTEGRIDAD ÓSEA DE POLLOS DE CARNE EN RESPUESTA A SUPLEMENTACION DIETARIA CON DIFERENTES FUENTES DE FITASA COMERCIAL”**

## **RESUMEN**

El objetivo del presente ensayo fue determinar el efecto de cuatro fuentes de fitasas comerciales sobre el rendimiento productivo y la integridad ósea de pollos de carne de 1 a 28 días de edad. Se utilizaron 300 pollos BB machos de la Línea Cobb 500 distribuidos al azar en 30 corrales en piso (10 aves por corral), alimentados durante 28 días con uno de los siguientes tratamientos: T1, Dieta normal en Fósforo (DNP); T2, Dieta deficiente en Fósforo (DDP); T3, DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4, DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5, DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6, DDP + Fitasa D (50 g/TM). El suministro de alimento y agua fue ad libitum. El peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimentaria, y mortalidad se registraron semanalmente hasta la finalización del ensayo. A los 28 días de edad, 20 aves por tratamiento, fueron sacrificados para determinar el rendimiento de carcasa, rendimiento de piernas, peso de tibias y posteriormente los contenidos de humedad y ceniza en tibias. Los resultados mostraron que, el comportamiento productivo de los pollos de carne alimentados con niveles normales de fósforo (T1) fueron diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ) al resto de los tratamientos, asimismo no hubo diferencias estadísticas entre los promedios obtenidos por las fitasas A y C ni entre B y D, mientras que el tratamiento con nivel deficiente de fósforo (T2), mostró rendimientos menores. Las tibias de las aves de los tratamientos, con excepción del T2 ( $P < 0.05$ ), mostraron niveles adecuados cenizas. Se concluye que las respuestas productivas de las aves que recibieron la dieta deficiente en fósforo más las diferentes fitasas fueron menores que el de las aves alimentadas con la dieta normal en fósforo.

*Palabras claves: fitasa, pollo de carne, rendimiento productivo, integridad ósea.*

**"PERFORMANCE AND BONE INTEGRITY OF BROILERS IN RESPONSE TO  
DIETARY SUPPLEMENTATION WITH DIFFERENT SOURCES OF  
COMMERCIAL PHYTASES"**

**SUMMARY**

The objective of this study was to determine the effects of four sources of commercial phytases on the performance and bone integrity of broilers from 1 to 28 days old. 300 one-day old Cobb 500 male chickens were distributed into 30 floor pens (10 birds per pen) and fed the experimental diets for 28 days. Five pens received one of the following treatments: T1, phosphorus adequate diet (PAD); T2, phosphorus deficient diet (PDD); T3, PDD + phytase A (100 g/TM); T4, PDD + phytase B (100 g/TM); T5, PDD + phytase C (50 g/TM) and T6, PDD + phytase D (50 g/TM). Feed and water were provided *ad libitum*. Live weight, weight gain, feed consumption, feed conversion, and mortality were recorded weekly. At 28 days of age, 20 birds per treatment were sacrificed to determine carcass and leg yield, and, weight, moisture and ash content of the tibias. The results showed that performance of broilers fed the PAD (T1) was significantly different ( $P < 0.05$ ) than that of the other treatments. The performances of broilers under diets that contain phytase A and C or B and D were not significantly different ( $P > 0.05$ ) while the group that received the PDD (T2) showed the lowest performance. Tibia ash values of all treatments, with the exception of T2, were adequate and not different among them. It is concluded that the performance of broilers that were fed the phosphorus deficient diet plus each of the different sources of commercial phytases was lower than that of the group that received the phosphorus adequate diet.

*Key words: Phytase, broilers, productive performance, bone integrity.*

## I. INTRODUCCIÓN

El rendimiento productivo en pollos de carne no siempre alcanza niveles esperados de producción, debido a ciertos factores que dificultan el aprovechamiento de nutrientes esenciales, entre ellos la utilización del fósforo, uno de los minerales de mayor importancia en el organismo animal, responsable de la formación y mantenimiento del hueso, especialmente durante el crecimiento y desarrollo esquelético de los pollos, además de ser usado como indicador del estatus osteológico en la formación de la matriz inorgánica, siendo las cenizas óseas el criterio para determinar el grado de mineralización.

Sin embargo, la digestibilidad del fósforo se ve afectada porque en su mayor parte no está disponible, por estar ligada a complejos que dificultan su aprovechamiento, especialmente el ácido fítico, que se desempeña como factor anti-nutricional y las aves no producen la enzima que logra hidrolizar y liberar los elementos ligados a ella con su consecuente utilización por parte del pollo; aunque la digestibilidad del ácido fítico se ve afectada por varios factores, incluyendo el calcio de la dieta, las interacciones micro-minerales, el estatus del fósforo de las aves y los ingredientes de la dieta, generalmente está bajo en comparación con las fuentes inorgánicas. Esta baja utilización del fósforo en granos y oleaginosas típica en dietas de aves, se ha traducido en la pérdida de valiosos nutrientes que ha contribuido a la excreción de este mineral.

Así, la biodisponibilidad del fósforo, puede ser incrementada usando enzimas fitasas, las cuales son producidas por microorganismos y se caracterizan por aumentar su disponibilidad en los alimentos, donde suele estar como fitato, permitiendo a las aves absorber de manera más eficiente el fósforo, promoviendo así mejor ganancia de peso, índice de conversión alimenticia, consumo de alimento y mineralización ósea.

Actualmente, en el mercado nacional, existen diversos tipos de fitasas microbiales y cada una con relativa efectividad para liberar fósforo fítico, pero no existen suficientes trabajos de investigación bajo condiciones controladas sobre el rendimiento productivo y desarrollo óseo que comparen la efectividad de estos productos y ayuden a dilucidar el desempeño y eficacia de los mismos en la nutrición de pollos de carne, puesto que nuevas fuentes de fitasas se van desarrollando con el avance en tecnologías de fermentación y que necesitan ser evaluados en ensayos biológicos.

El objetivo del presente ensayo fue comparar el efecto de cuatro fuentes de fitasas comerciales sobre el comportamiento productivo e integridad ósea de pollos de carne de 1 a 28 días de edad alimentados con dietas deficientes en fósforo.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. El fósforo como nutriente

Fósforo (P) es un macro-mineral esencial para la vida. Está implicada en el metabolismo energético, la señalización celular, el equilibrio ácido-base y la estructura ósea entre otros (Baker y Lewis, 1995). Junto con el calcio, el fósforo tiene un papel esencial en la formación del hueso. En el animal, el fósforo comprende aproximadamente 1% del peso vivo, y es considerado cuidadosamente cuando los alimentos y suplementos se formulan. Alrededor del 80% de fósforo en el cuerpo del animal se deposita en los huesos y dientes (Assuena *et al.*, 2009).

En pollos de carne de rápido crecimiento, la mineralización ósea es especialmente importante cuando la selección de líneas con tasas de mayor crecimiento y rendimiento de los músculos de la pechuga ha puesto una enorme presión sobre articulaciones de las piernas y el sistema esquelético (Williams *et al.*, 2000). El requerimiento diario de P de las aves, ha sido históricamente conocido por la suplementación en la dieta con fósforo inorgánico, aunque el maíz y la harina de soya, los granos y harinas de oleaginosas típicas en las dietas de aves de corral, son ricos en P total, pero se encuentran almacenados en el ácido fítico (Ravindran *et al.*, 1995).

### 2.2. Presencia y estructura del ácido fítico

Los principales ingredientes en dietas comerciales de cerdos y aves de corral son las semillas (cereales) o de productos a partir de semillas (harinas oleaginosas y subproductos de granos). Una gran parte (60-80%) del P en estos ingredientes se presenta en forma de fitatos, sales de ácido fítico (Cuadro 1). El ácido fítico, myo-

inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexaquis dihidrógeno fosfato, es un componente esencial de todas las semillas. Las semillas acumulan rápidamente el ácido fítico durante el período de maduración. La ubicación del fitato en las semillas es variable; en los granos pequeños, se encuentra principalmente en el salvado (capa de aleurona, pericarpio y testa), y en el caso del maíz se encuentra principalmente en el germen. Por lo general, en las semillas de leguminosas, el fitato se acumula en el cotiledón. En la soya, el ácido fítico se encuentra en los cuerpos de proteínas distribuidas en la semilla (Kornegay, 2001).

**Cuadro 1: Contenido de fósforo fítico y actividad fitasa de algunos ingredientes**

Ingrediente	P fítico (%)	P fítico (% total de P)	Actividad fitasa (unid. Kg <sup>-1</sup> )
<u>Cereales y subproductos</u>			
Maíz	0.24	72	15
Trigo	0.27	69	1193
Sorgo	0.24	66	24
Cebada	0.27	64	582
Avena	0.29	67	40
Afrecho de trigo	0.92	71	2957
<u>Harina de oleaginosas</u>			
Harina de soya	0.39	60	8
Harina de canola	0.70	59	16
Harina de girasol	0.89	77	60
Harina de maní	0.48	80	3

Fuente: Kornegay (2001), datos adaptados de Ravindran (1996) y Ravindran et al. (1994, 1995).

### 2.3. Biodisponibilidad del fósforo fítico

La biodisponibilidad del P en los cereales y los productos de semillas oleaginosas en general es muy baja para los cerdos y aves de corral, ya que tienen una capacidad limitada para utilizar el P fítico (Cuadro 2). Estimaciones de la biodisponibilidad del P en el maíz y la harina de soya para cerdos y aves de corral está en el rango 10 a 30% (Jongbloed y Kemme, 1990; Cromwell, 1992). Esta baja disponibilidad del P fítico presenta dos problemas para los productores: (i) la necesidad de añadir suplementos de P inorgánico en las dietas, y (ii) la excreción de grandes cantidades de fósforo en las heces.

**Cuadro 2: Biodisponibilidad del fósforo para cerdos y fósforo no fítico para aves**

Ingrediente	Biodisponibilidad de P para cerdos	P no fítico para aves (% del total)
<u>Cereales y subproductos</u>		
Maíz	12	28
Avena	23	33
Cebada	31	36
Triticale	46	33
Trigo	50	31
<u>Harinas altas en proteínas - origen vegetal</u>		
Harina de maní	12	21
Harina de canola	21	26
Harina de soya, 44% de proteína	35	40

Fuente: Kornegay (2001), datos adaptados de Cromwell (1992).

La molécula de ácido fítico tiene un alto contenido de P (28.2%) y potencial de quelación para formar una gran variedad de sales insolubles con cationes di y trivalentes a pH neutro. Un mol de ácido fítico puede unir un promedio de 6.3 mol de Ca para formar fitatos insolubles a pH del intestino delgado. La formación de fitato insoluble hace tanto al Ca y P disponible. El Zinc, Cobre, Cobalto, Manganeso, Hierro y Magnesio también pueden formar complejos. Esta unión hace de estos minerales potencialmente disponibles para la absorción intestinal. El ácido fítico puede tener una influencia negativa en proteínas y aminoácidos (O'Dell y De Borland 1976; Knuckles *et al.*, 1985) e inhibe las enzimas proteolíticas como la pepsina y tripsina en las condiciones gastrointestinales (Singh y Krikorian, 1982).

#### **2.4. Ácido fítico y la eficacia de la fitasa**

La hidrólisis del fitato dietético por la fitasa microbiana extrínseca fue investigado, probablemente por primera vez por Nelson *et. al.*, (1971), quienes observaron mejorar la utilización del P por pollos alimentados con dietas de maíz – soja conteniendo *Aspergillus*. Sin embargo los costos de la adición de la enzima eran muy altos y existía poca presión ambiental para reducir la excreción de P hasta finales de 1980.

Los efectos negativos asociados al ácido fítico pueden ser aliviados, en parte, por el uso de fitasa exógena. Los resultados de varios estudios han demostrado mayor digestibilidad y la utilización de P, y por lo tanto reduce la excreción de P al medio ambiente debido a la fitasa (Applegate *et al.*, 2003; Penn *et al.*, 2004; Ángel *et al.*, 2006; Leytem *et al.*, 2007). La liberación de P del ácido fítico por la fitasa, sin embargo, lejos de ser completa, sólo un promedio de 15 – 20% de fitato presente en la dieta de las aves de corral es liberada. Aunque en general se acepta que con la adición de fitasa el contenido de fósforo disponible de las dietas de pollos de engorde se puede reducir en un punto porcentual alrededor de 0,1 (es decir, 0,45 a 0,35%), los valores de digestibilidad de P fítico registrados en ellas no se cuenta para dicha reducción (Slominski, 2010 y Shaw *et al.*, 2010).

El grado de liberación de P fítico no sólo está relacionado con la tasa de inclusión de fitasa exógena, más aún el hecho de que la molécula de fitato es relativamente inaccesible para la hidrólisis. Esto podría ser debido a la formación de complejos insolubles fitato-Ca. Se cree que la hidrólisis del fitato tiene lugar principalmente delante del estómago (buche, proventrículo, molleja) donde el pH es más propicio para la acción de la fitasa y el sustrato fitato es más soluble en agua (Selle y Ravindran, 2007).

Un aumento en el valor productivo con la suplementación de la enzima se puede lograr mediante: (1) la eliminación del efecto de encapsulamiento de nutrientes de las paredes celulares y por lo tanto, la energía mejorada y la disponibilidad de aminoácidos, (2) la solubilización de la pared celular de los polisacáridos no amiláceos (NSP) para una más efectiva fermentación en el intestino grueso y una mejor utilización de la energía en general, (3) la hidrólisis de ciertos tipos de vínculos de proteínas con hidratos de carbono y por lo tanto, mejorar la disponibilidad de los aminoácidos, y (4) la eliminación de las propiedades anti nutritivas de ciertos componentes de la dieta, incluida la NSP, por su hidrólisis enzimática de los componentes de tipo prebiótico que, a su vez, puede facilitar el desarrollo y la salud intestinal en los pollos jóvenes (Slominski, 2010).

## 2.5. Fitasas

Dos factores importantes condujeron al desarrollo de la fitasa comercial que podrían ser utilizados económicamente en las dietas de cerdo y aves de corral. El primero fue el avance de la biotecnología que condujo a las técnicas para modificar genéticamente los hongos; segundo, fue de reducir la excreción de P. Ciertamente, el hecho de que el gen de la fitasa se han identificado y aislado hizo posible la modificación genética de *Aspergillus niger*. Además, una mejora en la tecnología de fermentación fue un factor contribuyente (Kornegay, 2001).

Las fitasas microbianas se encuentran en numerosas bacterias, levaduras y hongos (Harland y Morris, 1995) pero se han detectado con mayor frecuencia en medios del género *Aspergillus* de hongos ascomicetos (Nair y Duvnjak, 1991). La actividad de fitasa en general se define de la siguiente manera: una unidad de actividad fitasa es la cantidad de enzima que libera 1 mol de fósforo inorgánico en 1 minuto en una solución de 5,1 mmol de fitato de sodio a 37 °C y pH 5.5 (Kornegay, 2001).

La fitasa de origen microbiano (3-fitasa, EC 3.1.3.8) hidroliza el grupo fosfato primero en la posición C3, mientras que la fitasa de origen vegetal (6-fitasa EC 3.1.3.26) actúa primero en la posición C6 (Pallauf y Rimbach, 1995). La fitasa producida por *Aspergillus* tiene dos pH óptimos: una a pH 2.5 y el otro a pH 5.5. La fitasa de trigo sólo tiene un pH óptimo de 5.2. La fitasa de *Aspergillus* ha demostrado ser más eficaz por unidad de actividad de la fitasa en trigo, probablemente debido a estas diferencias (Eeckhout y De Paepe, 1996).

Cuatro posibles fuentes de fitasa podrían separar el fitato en el tracto digestivo de cerdos y aves de corral: (i) la fitasa intestinal en las secreciones digestivas, (ii) fitasas endógenas presente en algunos ingredientes de los piensos, (iii) la fitasa procedentes de las bacterias residentes, o (iv) fitasa producida por microorganismos exógenos (Nys *et al.*, 1996). El contenido del estómago y cultivos del intestino de los cerdos

(Jongbloed *et al.*, 1992; Yi y Kornegay, 1996), y el estómago y el intestino delgado de pollos (Liebert *et al.*, 1993) tienen actividad fitasa insignificante.

### **2.5.1. Efectos fitasas sobre la digestibilidad de nutrientes**

Los efectos de la suplementación de enzimas fitasas sobre la digestibilidad de nutrientes en alimentos fueron investigados en algunos experimentos. Sebastian, *et al.*, (1996) reportaron que la suplementación de fitasa mejoró significativamente la digestibilidad ileal de la grasa cruda. La fitasa también puede mejorar la utilización de proteínas, aminoácidos y energía metabólica aparente de las dietas de pollos de engorde complementada con la enzima fitasa (Ravindran, *et al.*, 1999). Rutherford, *et al.*, (2004) también mostró que la fitasa microbiana mejora la digestibilidad del P fítico, así como la digestibilidad ileal verdadera de aminoácidos de dietas basadas en maíz - soya.

Onyango, *et al.*, (2005) probaron que la fitasa en pollos de engorde mejora la retención de fósforo, calcio, nitrógeno, y un gran número de aminoácidos. La fitasa microbiana en la dieta de pollos de engorde ha demostrado reducir la excreción de fósforo (Simons, *et al.*, 1990). Yan, *et al.*, (2006) sostiene que la excreción del P de los pollos podría ser reducida por la suplementación de fitasa.

### **2.5.2. Efectos fitasas en la mejora de la biodisponibilidad de fósforo**

Varias ecuaciones se han generado para un conjunto de datos en cerdos y aves de corral con niveles superiores de la fitasa que varían entre 600, 800, 1000, 1200 ó 1500 U kg<sup>-1</sup> de la dieta. Se realizó una evaluación de las estimaciones de la digestibilidad (o retención) del P calculado, utilizando cada una de estas ecuaciones. Dentro del rango de 100 a 600 U kg<sup>-1</sup> para cerdos y 200 a 800 U kg<sup>-1</sup> para aves de corral, valores similares se obtuvieron en general, para las distintas ecuaciones (Kornegay, 2001).

### **2.5.3. Efectos fitasas en el crecimiento y la utilización de nutrientes**

Un conjunto de datos muy prometedores han sido publicados sobre la eficacia de la fitasa en dietas de gallinas. En comparación con dietas de P adecuado, la adición de fitasa a dietas bajas en P resultó en el mismo rendimiento productivo. Es interesante señalar que incluso en un nivel muy bajo de fósforo no fítico en la dieta (Hughes *et al.*, 2008), los parámetros de producción se mantuvieron similares y no existe diferencias estadísticamente significativas.

Aunque en muchos estudios, la adición de fitasa a dietas bajas en P ha demostrado que mejora el crecimiento y la utilización de nutrientes, su efecto ha sido menor o mínimo en comparación con las dietas control con P suficiente. Como se demuestra en estudios más recientes, el poco efecto de la suplementación de fitasa en el crecimiento y la utilización de la energía y aminoácidos en pollos de engorde (Slominski, 2010).

### **2.5.4. Efectos fitasas sobre el rendimiento y composición corporal**

Leeson *et al.*, (2000), alimentaron por trece días pollos de engorde con niveles graduales de fósforo disponible (0.25 – 0.45%) y suplementadas con fitasas bacteriales y fúngicas; la alimentación con dietas de 0.25% de fósforo disponible resultó en la reducción de la ingesta de alimento (244.6 g) y la ganancia de peso (199.7 g), con la pérdida asociada en el peso de la tibia (454 mg), ceniza tibia (30.8%) y el contenido de fósforo de tibia (2.6%). La adición de 600 IU kg<sup>-1</sup> de fitasa para el caso de *Aspergillus niger*, corrige los problemas, ingesta de alimento (297.1 g), ganancia de peso (246.8 g), peso de la tibia (557 mg), ceniza tibia (33.3%) y contenido de fósforo de tibia (3.8%).

Pourreza y Classen (2001), probaron diferentes niveles de fitasas y xylanasas adicionando salvado de trigo en la alimentación de pollos parrilleros de 1 a 21 días de edad, logrando para el caso de solo fitasas, mejores rendimientos con 500 FTU en

cuanto a ganancia de peso (523 g), conversión alimenticia (1.60) y porcentaje de ceniza en hueso tibia (46.6 %).

Shirley y Edwards (2003), sugieren que los niveles altos de fitasa (de 1500 y 12000 U/Kg) se pueden usar para mejorar la utilización general del fitato P y posiblemente otros nutrientes en una dieta deficientes de P total, igualando así el rendimiento de pollos de engorde alimentados con dietas que contienen fósforo inorgánico suplementario.

Para mejorar la utilización del fósforo fítico presentes en los granos de cereales, Godoy *et al.*, (2002), determinaron el efecto de incorporar fitasas exógenas en dietas de maíz-soya en pollos de engorde, utilizando 480 aves de un día de edad de la línea Cobb hasta las cuatro semanas. A las dietas se incluyeron niveles crecientes de fitasas de *Aspergillus niger* (0, 300, 400 y 500 U/kg) con niveles crecientes de fósforo (0.45; 0.55 y 0.65%). La suplementación de fitasa a niveles de 0.45% mejora el rendimiento, logrando así 1,232 g de peso vivo, 1.31 de conversión alimenticia y 38.50 % de ceniza al adicionársele 400 U/kg de fitasa, comparativamente sin la adición de la misma. Aunque si se compara con niveles adecuados de fósforo (0.65%) los resultados difieren significativamente del nivel marginal.

Con la finalidad de determinar el efecto de la suplementación de fitasa microbiana en dietas de pollos parrilleros basados en torta de soya con bajos niveles de fósforo (0.31 % Pd), Mondal *et al.*, (2007), encontraron que, al utilizar 500 PU de fitasa mejora el rendimiento productivo de 1 a 21 días tales como ganancia peso (643.84 g), conversión del alimento (1.54), porcentaje de ceniza en hueso (33.56), largo de la tibia (12.33 cm) y amplitud de tibia (17.46 mm), concluyendo que la fitasa microbiana puede compensar el efecto adverso de los bajos niveles de fósforo en la dieta de pollos de carne.

Para examinar el potencial de la suplementación de una fitasa comercial en dietas de pollos de carne de 0 a 21 días de edad, con bajos niveles de fósforo no fítico mediante la reducción de fosfato dicálcico, Panda *et al.*, (2007), encontraron que, utilizando 500 FTU/kg sobre un nivel de 0.30 de Pd, mejora el rendimiento de los mismos, como ganancia de peso de 551 g, ingesta de alimento de 798 g y conversión del alimento de 1.45, logrando 44.92% de porcentaje de ceniza.

Ahmad (2008), evaluó niveles bajos de fósforo disponible (0.36%) con suplementación de fitasas en la alimentación de pollos parrilleros de 1 a 42 días de edad, encontraron que la adición de fitasas a niveles de 3000 PU/kg de alimento a los 28 días, mejora la performance y no existiendo diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.5$ ) cuando se comparan con niveles adecuados de fósforo (0.50% Pd) sin adición de la fitasa, logrando así, 862 g para la ganancia de peso, 80.7 g de consumo de alimento al día por ave, conversión del alimento de 1.59, con rendimientos de carcasa de 72% y 10.7% de ceniza del hueso tibia.

Hatsumi *et al.*, (2008), utilizando 520 pollos BB de la línea Cobb de uno hasta los veinte días de edad, alimentaron con maíz, soya y arroz desgrasado, evaluando el efecto de la suplementación de fitasas sobre su rendimiento; la composición porcentual de los tratamientos fueron: control positivo 0.42% de Pd y, el control negativo 0.27% de Pd, adicionándoles tres niveles de fitasas 500, 750 y 1000 UFT/kg al control negativo. Logrando una ganancia de peso de 34.32 g/día (CP), 30.70 g/día (CN), 35.45 g/día (CN + 500 UFT/kg), 36.17 g/día (CN + 750 UFT/kg) y 36.10 g/día (CN + 1000 UFT/kg); la conversión alimenticia fue de 1.45, 1.51, 1.39, 1.41 y 1.39 para el orden de los tratamientos mencionados. Concluyendo que la reducción en los niveles nutricionales de la dieta perjudican el desempeño y la mineralización y resistencia ósea de las tibias, en tanto que la suplementación con fitasas mejora estas características.

Oliveira *et al.*, (2009) evaluaron la inclusión de fitasa en dietas con niveles reducidos de fósforo no fítico en el desempeño, rendimiento de carcasa y características de la cama de pollos de carne de 1 a 42 días, los resultados a los 21 días muestran que la inclusión de fitasa a 25 U/kg de alimento, aumenta la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión del alimento, cualquiera que sea el nivel de fósforo no fítico (0.45; 0.38 y 0.31%). Así para el nivel reducido de fósforo no fítico (más la fitasa) logró, 718 g de ganancia de peso, 1,129 g/ave para el consumo de alimento y 1.57 de conversión del alimento, además a los 42 días obtuvieron 78.83% de rendimiento de carcasa y 23.29 de porcentaje de piernas.

Para evaluar los efectos de la inclusión de diferentes niveles de fitasa (250, 500, 750 y 1000 FTU/kg de alimento) en el rendimiento, densitometría ósea y excreción de fósforo y nitrógeno en pollos parrilleros, Assuena *et al.*, (2009), encontraron que, en general, la adición de fitasa dio lugar a una disminución lineal en el rendimiento de pollos de engorde. Sin embargo, los resultados de rendimiento obtenidos con el nivel de 250 FTU de fitasa/kg de alimento no fueron diferentes de tratamiento de control, 718 g para la ganancia de peso, 1,026 g para el consumo de alimento y 1.44 para la conversión del alimento.

Pollos de carne fueron alimentados de 8 a 22 días con dietas que contenían 0,45% de P no fítico (nPP), adicionando 500, 7500 y 15000 FTU/kg de suplemento de fitasa, produciendo así, un aumento sobre la ganancia de peso (663, 727 y 666 gramos respectivamente) y siendo significativo ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con la dieta estándar (control positivo: 564 g); el consumo de alimento fue mayor y registró (951 g) diferencias significativas sólo cuando usó 7500 FTU/kg (Persia, 2010).

En otro experimento, Persia (2010), pollos de engorde fueron alimentados de 0 a 21 días de edad, con dietas que contenían 0.45 y 0.30 % de nPP, donde además de estos dos tratamientos, al de menor contenido de P (0.30%), le adicionaron 5000 FTU de

fitasa *E. coli*, encontrando que el incremento de peso (720 g) no difiere estadísticamente del control positivo (668 g), pero si numéricamente fueron diferentes; de igual modo observó en la conversión del alimento, que la adición de la fitasa (1.37) fue estadísticamente similar a la dieta con 0.45% (1.36).

Woyengo *et al.*, (2010), evaluaron el rendimiento de pollos parrilleros de 1 a 21 días de edad con la adición de fitasas solas y en combinación con xylanasas, encontrando que la adición de fitasas a niveles bajos de fósforo disponible (0.26%) mejora el rendimiento cuando se compara sin la adición de la misma; así, la ganancia de peso fue de 632 g/aves, la conversión alimenticia de 1.35 y el porcentaje de ceniza en 42.4%.

Karimi *et al.*, (2011) probó diferentes niveles de nPP en 308 pollos de la línea Ross de 0 a 21 días de edad (0.45, 0.40, 0.35, 0.30, 0.25 %) comparado con 0.20 de nPP adicionando 500 FTU, obteniendo resultados en cuanto a ganancia de peso de 28.5 g/d para el nivel 0.45 de P y de 19.2 g/d para el nivel 0.20 de P con adición de fitasas, con conversiones alimenticias de 1.71 y 2.21, así mismo encontraron un 36.6, 28.6 y 26.7% de ceniza con 0.40, 0.20 y 0.20 más 500 FTU de fitasas para el orden antes mencionado, en conclusión los resultados mostraron que la combinación de un nivel inferior de nPP y fitasa se pueden utilizar para aumentar la utilización de P en la dieta, sin cambios severos en el rendimiento y la calidad del hueso.

#### **2.5.5. Efectos fitasas sobre el contenido de ceniza de los huesos**

El estado del esqueleto es comúnmente utilizado como un indicador de nutrición mineral adecuada (Onyango *et al.*, 2003; Uculmana *et al.*, 2015b), y consecuentemente es usada para evaluar niveles adecuados de calcio y fósforo; la ceniza en tibia es considerada y usada como una variable bastante sensible a la variación de calcio y fósforo.

Gillis *et al.*, (1954) fueron los primeros en cuantificar la disponibilidad de fósforo en las aves, utilizando como criterio las respuesta al porcentaje de ceniza en la tibia. Observaron que la relación del porcentaje de ceniza de la tibia y el fósforo ingerido en la dieta, fue lineal cuando se aplicaron los niveles de fósforo por debajo de los requerimientos. La ceniza del hueso es el parámetro más usado para cuantificar la mineralización ósea (García y Dale 2006).

Field *et al.*, (1974) encontraron que el porcentaje de calcio en la ceniza del hueso varía poco entre las especies o entre la ubicación anatómica de los huesos, también es válido para el fósforo debido a su relación como componente de la hidroxiapatita (Ca:P=2:1). Además la concentración de ceniza en el hueso puede ser disminuido por las dietas con bajos niveles de calcio y fósforo (Field, 1999). La mineralización ósea de la tibia y el fémur se ha usado como criterio de respuesta en la evaluación del nivel de fósforo y calcio en la dieta o el requerimiento de estos minerales en los pollos de carne (Coto *et al.*, 2008; Hemme *et al.*, 2005 y Ángel *et al.*, 2006).

Hatsumi *et al.*, (2008), utilizando 520 pollos BB de la línea Cobb de 1 a 20 días, evaluaron el efecto de la suplementación de fitasas sobre su rendimiento en material mineral con niveles de 500, 750 y 1000 UFT, logrando 53.24 % de material mineral con adición de 750 UFT (niveles mínimos de P) y 51.81% sin adición de fitasa pero con niveles adecuados de fósforo, resultando significativamente superior a dietas que no contenían fitasa y con niveles mínimos de fósforo (0.27 % P), de 45.75% de material mineral.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar y duración**

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad Experimental de Avicultura de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Las dietas fueron preparadas en la Planta de Alimentos de la UNALM. Los análisis químicos se desarrollaron en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM, determinándose el análisis proximal de las dietas y niveles de fósforo de los ingredientes. El experimento tuvo una duración de cuatro semanas de crianza y las determinaciones de las características óseas en el laboratorio duraron diez semanas.

#### **3.2. Instalaciones y equipos**

La prueba fue realizada en un galpón para pollos distribuidos en corrales en piso de 1.5 m de largo por 0.7 m de ancho y 0.4 m de alto, confeccionados con tubos de pvc y malla de plástico, equipados con comederos y bebederos BB para los 6 primeros días, luego se cambiaron a comederos lineales y bebederos lineales automáticos hasta los 28 días. La calefacción fue provista por un sistema de campanas calefactoras proveídas de gas propano con balones de 45 kg de capacidad y controladas de acuerdo a las recomendaciones de la línea genética (Cobb-Vantress 2008).

Para pesar el alimento y los pollos se utilizó una balanza digital de 15 kg de capacidad con 1 gramo de sensibilidad. Mientras que para el pesaje de los ingredientes de la premezcla se usó una balanza electrónica con capacidad de 6 kg y aproximación de 1 gramo. Se utilizó una mezcladora de cinta de 50 kg de capacidad

para la mezcla de los ingredientes y de las premezclas. El agua de bebida fue potabilizado con 1 ml de hipoclorito de sodio al 4.5% por cada 10 L de agua. Asimismo se acidificó con 10 ml de vinagre comercial por cada 10 L de agua.

A los 28 días de edad, se sacrificaron cuatro pollos de cada unidad experimental en la sala de beneficio de la granja de aves de la UNALM, con la finalidad de extraer el hueso tibia izquierdo para determinar los pesos empleando una balanza analítica con capacidad de 320 g y con una aproximación de 0.1 mg. Para la determinación del volumen de los huesos se empleó probetas graduadas con capacidad de 10 y 25 cm<sup>3</sup> y con una aproximación de 0.2 cm<sup>3</sup>. Los huesos fueron medidos empleando un vernier (Kocabagli, 2001) marca Uyustools profesional con una capacidad para 15 cm y una aproximación de 0.05 mm.

### **3.3. Animales experimentales**

Para el ensayo se emplearon 300 pollos BB machos de la línea Cobb 500. Los pollos fueron distribuidos al azar en 30 unidades experimentales con 10 aves cada una.

### **3.4. Tratamientos**

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

Tratamiento 1, Dieta nivel normal en P (DNP):	Dieta inicio 0.45% Pd.
Tratamiento 2, Dieta nivel deficiente en P (DDP):	Dieta inicio 0.25% Pd.
Tratamiento 3, DDP + fitasa A:	(100 g/TM)
Tratamiento 4, DDP + fitasa B:	(100 g/TM)
Tratamiento 5, DDP + fitasa C:	(50 g/TM)
Tratamiento 6, DDP + fitasa D:	(50 g/TM)

Las fichas técnicas y certificados de análisis de las fitasas evaluadas, se muestran en los Anexos I, II, III y IV.

### **3.5. Dietas experimentales**

Antes de la formulación de las dietas se determinaron las cantidades de P de los ingredientes a usar en el LENA – UNALM. Las especificaciones nutricionales que se consideraron, son las indicadas en la guía nutricional para pollos de carne de la línea Cobb 500 (2008), ver Anexo V. Para la dieta nivel normal en P se tomó en cuenta el requerimiento óptimo (0.45% de P disponible) y para la dieta deficiente en fósforo, se consideró requerimiento mínimo (0.25 % de Pd). En el cuadro 3 se muestra la composición, los valores nutricionales calculados y nutrientes de las dietas experimentales.

### **3.6. Alimentación**

Se suministró una dieta basal a base de maíz duro y torta de soya, complementada con aceite de soya y aminoácidos sintéticos y suplementada con una premezcla de vitaminas y minerales. La disponibilidad del alimento y agua de bebida fue ad libitum, durante toda la prueba.

### **3.7. Mediciones**

#### **3.7.1. Rendimiento productivo:**

##### **3.7.1.1. Ganancia de peso**

Los pollos se pesaron al inicio del experimento, luego se tomaron semanalmente hasta el final del ensayo.

##### **3.7.1.2. Consumo de alimento**

El alimento antes de suministrar fue pesado y el residuo también se pesó para evaluar el consumo semanal.

**Cuadro 3: Composición, valores nutricionales calculados y nutrientes analizados de las dietas normal y deficiente en fósforo.**

Ingrediente	D i e t a	
	Normal en P	Deficiente en P
Maíz amarillo molido	61.160	61.887
Torta de soya	31.471	31.319
Aceite crudo de soya	3.638	3.409
Fosfato dicálcico	1.822	0.723
Carbonato de Calcio	0.611	1.364
DL-Metionina	0.203	0.202
Lisina-HCL	0.137	0.140
Cloruro de Colina 60	0.100	0.100
Premezcla Vitamina-Mineral	0.100	0.100
Secuestrante	0.100	0.100
Antihongos	0.050	0.050
Antioxidante	0.050	0.050
Antibiótico	0.050	0.050
Sal común	0.457	0.457
Cocciostato	0.050	0.050
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

**Valor Nutricional (Calculado)**

E.M., Kcal/kg	3035	3035
Proteína total, %	20.50	20.50
Lisina total, %	1.18	1.18
Met + Cist total, %	0.87	0.87
Calcio, %	<b>0.80</b>	<b>0.80</b>
Fósforo disponible, %	<b>0.45</b>	<b>0.25</b>
<b>Nutrientes analizados <sup>1</sup></b>		
Proteína Total, %	19.55	19.82
Fósforo total, %	0.76	0.59

<sup>1</sup> Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) – UNALM.

### **3.7.1.3. Conversión alimenticia acumulada**

Este rendimiento se estableció mediante el consumo de alimento entre el incremento de peso tanto semanal como acumulado durante toda la prueba.

### **3.7.1.4. Índice de eficiencia productivo europeo**

Se utiliza para medir y comparar la eficiencia obtenida en explotaciones de pollos de engorde, cuyo objetivo es valorar los resultados zootécnicos del lote y determinar la rentabilidad económica (Aguavil, 2012). Este índice tiene una referencia constante de 300; si el resultado es mayor a 300 el lote productivo es bueno en términos económicos y si fuese menor a este valor su rentabilidad es menor. La fórmula que le define es la siguiente:

$$\text{I.E.P.E.} = \frac{\text{Peso vivo (kg)} \times \text{Viabilidad (\%)}}{\text{Edad de saca (días)} \times \text{Conversión alimenticia}} \times 100$$

### **3.7.1.5. Rendimiento de carcasa**

A los veintiocho días se sacrificaron a todos los pollos, quitándoles las vísceras, plumas, entre otras partes no comestibles, luego se pesó toda la carcasa, seccionando inclusive las piernas para determinar la relación (%) respecto al porcentaje de carcasa.

### **3.7.1.6. Rendimiento de piernas**

Se calculó el porcentaje de piernas con respecto al peso vivo de los pollos a los 28 días. Para determinar el peso de la pierna, se retiró la pierna (hueso tibia) completa de la carcasa sin piel.

### **3.7.1.7. Porcentaje de mortalidad**

Se registró diariamente las aves que yacían muertos por diversas causas dentro de cada unidad experimental.

### **3.7.2. Características óseas de la tibia**

#### **3.7.2.1. Determinación de ceniza**

Mediante el uso de un horno Mufla, cada hueso se sometió a incineración a 500 °C durante 12 horas.

### **3.7.3. Características morfométricas de la tibia**

#### **3.7.3.1. Peso del hueso**

Para determinar el peso de los huesos, se usó una balanza analítica expresando la medida en miligramos (mg).

#### **3.7.3.2. Largo**

Se determinó considerando la longitud mayor de extremo a extremo del hueso, manteniendo el eje longitudinal del hueso paralelo al brazo principal del vernier. Los valores se presentan en milímetros (mm).

#### **3.7.3.3. Diámetro de diáfisis**

Se determinó los diámetros latero-lateral (DLL) y cráneo caudal (DCC) de la diáfisis en la mitad de la longitud del hueso (Kocabagli, 2001; Quarantelli *et al.*, 2007). El diámetro promedio de la diáfisis (DP) se expresa en milímetros (mm) y se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$DP = \frac{DLL + DCC}{2}$$

#### **3.7.3.4. Volumen**

El volumen de cada hueso (cm<sup>3</sup>) se determinó midiendo el desplazamiento de agua en probetas graduadas al sumergir completamente cada hueso (Sato, 1995; Zhang y Coon, 1997; Quarantelli *et al.*, 2007).

### 3.7.3.5. Índice de forma

Se determinó dividiendo el largo del hueso entre el diámetro de la diáfisis. Este índice indica cuántas veces está contenido el diámetro de la diáfisis del hueso en el largo del mismo.

### 3.7.4. Indicadores de mineralización de la tibia

#### 3.7.4.1. Densidad

La densidad ósea se determinó mediante la densidad volumétrica del hueso (Quarantelli *et al.*, 2007); de esta forma se considera como densidad ósea a la masa orgánica e inorgánica en el hueso por unidad de volumen del mismo (Rath *et al.*, 2000) y se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad (mg/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Peso, mg}}{\text{Volumen, cm}^3}$$

#### 3.7.4.2. Índice modificado de Seedor

Este índice fue propuesto por Seedor *et. al.*, (1991) como indicador de la densidad y calidad ósea. Este índice se basa en el concepto de que es la fracción mineral del hueso la que tiene mayor densidad específica. Así, cuando mayor es este índice mayor es la densidad del hueso. Se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Índ. modificado de Seedor}}{\text{Seedor}} = \frac{\text{Peso, mg}}{\text{Largo, mm}}$$

#### 3.7.4.3. Índice de Quetelet

Este índice, también llamado “índice de masa corporal”, fue propuesto por Adolphe Quetelet alrededor de 1740, es ampliamente usado en medicina humana para determinar obesidad y ha sido empleado en estudios con pollos de carne (Rutten *et al.*, 2002). Si bien se expresa de manera estándar en kg/m<sup>2</sup>, los valores reportados en

$\text{mg}/\text{mm}^2$  son numéricamente idénticos. Cuanto menor es el índice de Quetelet, el hueso es relativamente más liviano pero más largo, mientras cuanto mayor es el índice, el hueso es relativamente más pesado pero más corto. Se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Quetelet} = \frac{\text{Peso, mg}}{(\text{Largo, mm})^2}$$

#### 3.7.4.4. Índice de robusticidad

Este índice fue propuesto por Alphonse Riesenfeld en 1972 y ha sido empleado en estudios con pollos de carne (Kocabagli, 2001; Mutus *et al.*, 2006; Somkuwar *et al.*, 2010). Cuanto menor es este índice se considera que la estructura del hueso es más fuerte. Se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Í. de Robusticidad} = \frac{\text{Peso, mg}}{\sqrt[3]{\text{peso, g}}}$$

### 3.8. Diseño estadístico

Los datos recolectados fueron sometidos al Análisis de Variancia bajo el Diseño Completamente Randomizado (Calzada 1982) con 6 tratamientos y 5 repeticiones por tratamiento, cada repetición por 10 pollos, aplicando el procedimiento GLM del programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000). La comparación entre medias se determinó mediante la Prueba de Duncan (1955). El Modelo Aditivo Lineal General fue el siguiente:

$$Y_{ij} = u + T_i + e_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Observación experimental

$u$  = Media general

$T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$e_{ij}$  = Error experimental.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Peso vivo y ganancia de peso

El peso vivo inicial y peso vivo final (g/ave), y las ganancias de peso (g/ave) obtenidos a los 28 días de edad de los pollos machos de la Línea Cobb 500 alimentados con dietas que contenían niveles normales (T1), deficientes (T2) de fósforo disponible y T2 más diferentes fuentes de fitasas comerciales (T3, T4, T5 y T6), se presentan en el Cuadro 4 y Anexo VI.

La mayor ganancia de peso (1374 g) se obtuvo en las aves que recibieron niveles normales de P (0.45%), mientras, las aves que recibieron niveles deficientes de P (0.25%) solo registraron ganancias de 851 g, existiendo diferencias significativas entre ellos ( $P < 0.05$ ). Dentro de las fuentes de fitasas evaluadas, la fitasa A registró la mejor ganancia de peso (1296 g) seguidos por C (1266 g), B (1193 g) y D (1133 g). No hubo diferencia estadística entre los promedios obtenidos con la fitasa A y C ni entre las fitasas B y D, pero A y C difieren ( $P < 0.05$ ) con D. Comparativamente, los niveles normales de fósforo (T1), resultan estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) con todas las fuentes de fitasas probadas.

Las diferencias de rendimiento encontradas en este estudio, se debe probablemente a que en la formulación de las dietas se basó en la matriz de cada fitasa comercial considerando sólo al fósforo disponible más no al resto de nutrientes que la constituyen, cada una de estas enzimas, vale decir, proteína cruda, aminoácidos, calcio y energía metabolizable. Asimismo, otro factor a considerar para estas diferencias, es el origen de la fitasa, siendo diversas las fuentes (fitasa A: *Aspergillus niger*; fitasas B y D: *Escherichia coli*; y fitasa C: mezcla de enzimas vegetales) y cada uno de ellos hidroliza al ácido fítico en distintas posiciones (C3 ó C6).

**Cuadro 4: Comportamiento productivo de pollos de carne alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasa (Período 1 a 28 días de edad)**

Medición	T1*	T2	T3	T4	T5	T6
Peso vivo inicial, g/ave	45 <sup>1a</sup>	45 <sup>a</sup>	44 <sup>a</sup>	45 <sup>a</sup>	45 <sup>a</sup>	44 <sup>a</sup>
Peso vivo final, g/ave	1419 <sup>a</sup>	896 <sup>e</sup>	1340 <sup>b</sup>	1238 <sup>cd</sup>	1311 <sup>cb</sup>	1177 <sup>d</sup>
Ganancia de peso, g/ave	1374 <sup>a</sup>	851 <sup>e</sup>	1297 <sup>b</sup>	1193 <sup>cd</sup>	1266 <sup>cb</sup>	1133 <sup>d</sup>
Ganancia de peso, g/día	49.1 <sup>a</sup>	30.4 <sup>e</sup>	46.3 <sup>b</sup>	42.6 <sup>cd</sup>	45.2 <sup>cb</sup>	40.5 <sup>d</sup>
Consumo de alimento, g/ave	1919 <sup>a</sup>	1603 <sup>c</sup>	1846 <sup>ab</sup>	1747 <sup>b</sup>	1812 <sup>ab</sup>	1776 <sup>b</sup>
Conversión alimenticia g/g	1.40 <sup>c</sup>	1.89 <sup>a</sup>	1.43 <sup>c</sup>	1.47 <sup>cb</sup>	1.43 <sup>cb</sup>	1.57 <sup>b</sup>
Mortalidad, %	4.00	38.46	0.00	10.00	4.00	10.00
IEPE <sup>2</sup>	348	104	336	272	314	241

(\* ) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

<sup>1</sup> Valores son promedios de cinco repeticiones de 10 aves cada una (50 aves por tratamiento).

<sup>2</sup> Índice de Eficiencia Productivo Europeo

<sup>a-e</sup> Valores con letras diferentes difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

Estos resultados son muy similares a los encontrados por Godoy *et al.* (2002), quienes a los 28 días experimentales, reportaron ganancias máximas de 1232 g, donde fue necesaria la adición de 540 U/kg para la liberación de un gramo de fósforo con un nivel de 0.25% de fósforo disponible en la dieta, en nuestro reporte las fitasas A y C, con 10000 y 5000 U/kg, lograron incrementos de pesos ligeramente superiores (1297 y 1266 respectivamente) producto del efecto de las fitasas en la liberación del P no fitico y su consecuente aprovechamiento en dietas deficientes de P, pero que no fueron similares a la dieta normal en fósforo.

Contrariamente, Hatsumi *et al.* (2008) reportaron resultados superiores a esta prueba trabajando hasta los 21 días de edad, donde encontraron ganancias de peso de hasta 1016 g con niveles de 0.27% de P disponible adicionando 750 FTU de fitasas, en este ensayo, T1 solo alcanzó 861 g y la fitasa A 818 g, que logró el mayor rendimiento entre todas las fitasas.

Otros autores encontraron resultados inferiores, tal como lo reporta Ahmad (2008), quien a los 28 días de ensayo obtuvo ganancias de peso de 862 g usando bajo contenido de fósforo (0.36%) con niveles de fitasas hasta 3000 PU; asimismo, varios autores trabajando hasta los 21 días de edad, reportaron incrementos de pesos por debajo del promedio obtenidos en este experimento, usando diversos niveles de fitasas (250 – 5000 U/kg) y bajos de fósforo disponible (Mondal *et al.*, 2007; Panda *et al.*, 2007; Oliveira *et al.* 2009; Woyengo *et al.*, 2010 y Persia 2010).

#### **4.2. Consumo de alimento y conversión alimenticia**

El consumo total de alimento (g/ave) y la conversión alimenticia acumulada, obtenida a los 28 días de edad de los pollos para cada tratamiento se presentan en el Cuadro 4 y Anexos VII y VIII. El mayor consumo de alimento registrado fue en niveles normales de P (1919 g) en tanto que, niveles deficientes mostraron el consumo más bajo (1603 g) existiendo significancia estadística entre ellos ( $P < 0.05$ ); las fitasas comerciales probadas consiguen consumos similares entre ellos no siendo significativo para el caso de las fitasas A (1846 g) y C (1812 g) y no resultan

diferentes del nivel normal, pero las fitasas B (1747 g) y D (1776 g) son inferiores a T1, asimismo las fitasas probadas son superiores al nivel deficiente de P (T2) encontrándose diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ).

Consumos comparativamente similares encontraron Assuena *et al.*, (2009) y Hatsumi *et al.*, (2008) en estudios que duraron 21 días, donde agregaron fitasas a niveles de 250 y 1000 U/kg y diferentes valores de fósforo (0.48 y 0.27% Pd respectivamente) logrando promedios de 1026 y 1016 g; en esta prueba, el mayor consumo de alimento con niveles deficientes del mineral adicionando fitasas fue con A (1077 g), lo que confirma que, la adición de fitasas en dietas con tenores bajos en fósforo aumenta el consumo de alimento tal como lo manifiesta Hussein (2005).

Ahmad (2008) encontró consumos de alimento mayores a este ensayo, en un experimento que duró 28 días, alcanzaron ingestas máximas de 2241 g usando fitasas con bajos niveles de fósforo (0.36% Pd); asimismo otros investigadores (Oliveira *et al.*, 2009) trabajando durante 21 días encontraron datos que superan a esta experimento, usando 25 U/kg de fitasas y un nivel de 0.31% de fósforo disponible. Por el contrario, Godoy *et al.*, (2002), Panda *et al.*, (2007); Mondal *et al.* (2007); Persia (2010) y Karimi *et al.*, (2011), quienes experimentaron entre 21 y 28 días, usando bajos niveles de fósforo y adicionando fitasas en la dieta, reportaron consumos de alimento por debajo a los encontrados en esta prueba, lo que conlleva a explicar que la eficiencia en el consumo de alimento es mejor cuando las ingestas son menores.

La mejor conversión alimenticia fue registrada para el nivel normal de P (1.40) en tanto que el nivel deficiente registró la conversión menos eficiente (1.89), encontrando diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ), asimismo entre las fitasas testadas, la fitasa A fue similar con B y C, pero C difiere significativamente con D. También las fitasas A, B y C son estadísticamente iguales T1, en tanto todas

las fitasas difieren significativamente de T2, registrando este último mayor un consumo de alimento que el resto de tratamientos.

Eficiencias alimenticias similares reportaron Hatsumi *et al.*, (2008) y Persia (2010) quienes trabajaron de 0 a 21 días logrando conversiones de 1.39 y 1.37, tal como como muestra este reporte a los 21 días, siendo 1.32 con la fitasa A y C para ambos casos. Por su parte Godoy *et al.*, (2002) cuando trabajó hasta 28 días encontraron resultados ligeramente superiores (1.28). En tanto Ahmad (2008) a los 28 días obtuvo conversiones menos eficientes (1.52), asimismo, Oliveira *et al.*, (2009), Assuena *et al.*, (2009) y Karimi *et al.*, (2011) quienes ensayaron por 21 días obtuvieron conversiones menos eficientes (1.57; 1.44 y 2.21 respectivamente).

#### **4.3. Porcentaje de mortalidad**

El mayor porcentaje mortalidad como era de esperar, lo registró T2 (38.46 %) comprobándose la importancia de este mineral en las principales funciones dentro del organismo, seguido las fitasas B y D con 10 %, C y T1 con 4% y no registrando mortalidad (0 %) la fitasa A, tal como se muestra en el Cuadro 4. Estos resultados se asemejan a los reportados por Karimi *et al.*, (2011) donde encontraron una mortalidad del 9.5% con dietas bajas en fósforo (0.20%) adicionándoles fitasas (500 FTU). En cambio Mondal *et al.*, (2007) y Oliveira *et al.*, (2009) lograron resultados más satisfactorios, donde a los 21 días de experimento alcanzaron mortalidades de 0.66 y 1.33% adicionando fitasas (500 PU y 25 U/kg) a niveles bajos de P (0.31%).

#### **4.4. Índice de Eficiencia Productivo Europeo**

El tratamiento con nivel normal en fósforo (348) logró el mejor Índice de Eficiencia Productivo Europeo seguido de las fitasas comerciales, donde las fitasas A (336) y C (314) lograron índices que sobrepasan el valor de 300 y se consideran dentro del rango de una producción eficiente, debido a que superan dicho valor, tal como sostiene Aguavil (2012), cuando afirma que valores de IEPE superiores a 300 son

adecuados en una explotación de pollos de carne; en tanto las fitasas B (272) y D (241), así como también T2 (104) no alcanzaron el valor aceptable de rentabilidad, datos que se detallan en el Cuadro 4. El uso de fitasas en dietas de pollos cuando se utiliza niveles bajos de P, mejora la eficiencia de producción y es comparable cuando se usa niveles adecuados del mismo mineral.

#### **4.5. Rendimiento de carcasa**

Los resultados de rendimiento de carcasa (%) de los pollos que consumieron las diferentes dietas experimentales y sacrificadas a los 28 días de edad, se presentan en el Cuadro 5. El rendimiento de carcasa encontrado usando fitasas comerciales no se observa diferencias estadísticas con el nivel normal de P (82.59%) a excepción de la fitasa B (80.14%), por el contrario la dieta deficiente en fósforo muestra diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con todos los tratamientos en estudio.

Este ensayo reporta mejores rendimientos de carcasa (81.56%) cuando se compara con otros autores donde obtuvieron en promedio 72 y 78% tales como Ahmad (2008) y Oliveira *et al.*, (2009), tomándose como una buena eficiencia de conversión del alimento respecto a la ganancia de peso, haciendo que el uso de las fitasas en dietas de pollos de carne, sea de marcado interés productivo y económico.

#### **4.6. Rendimiento de piernas**

Los resultados de peso de piernas (g) y rendimiento de piernas (%) de los pollos que consumieron las diferentes dietas experimentales y sacrificadas a los 28 días de edad, se muestran en el Cuadro 5. El peso de las piernas de la dieta normal en fósforo (328 g) supera a todos los tratamientos, seguido de las fitasas A, B y C, éstos a su vez superan a D y éste a la dieta deficiente en fósforo, notándose diferencias marcadas estadísticamente ( $P < 0.05$ ) para todos los casos. Para el porcentaje de piernas no se registró diferencias estadísticas entre cada tratamiento.

**Cuadro 5: Rendimiento de carcasa y piernas de pollos de carne de 28 días de edad alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasas**

Medición	T1*	T2	T3	T4	T5	T6
Peso vivo, g	1381 <sup>1a</sup>	940 <sup>d</sup>	1291 <sup>b</sup>	1261 <sup>b</sup>	1297 <sup>b</sup>	1196 <sup>c</sup>
Peso carcasa, g	1140 <sup>a</sup>	713 <sup>d</sup>	1053 <sup>b</sup>	1011 <sup>bc</sup>	1043 <sup>b</sup>	967 <sup>c</sup>
Rendimiento carcasa, %	82.59 <sup>a</sup>	75.67 <sup>c</sup>	81.56 <sup>ab</sup>	80.14 <sup>b</sup>	80.53 <sup>ab</sup>	80.83 <sup>ab</sup>
Peso de piernas, g	328 <sup>a</sup>	207 <sup>d</sup>	310 <sup>b</sup>	294 <sup>bc</sup>	300 <sup>b</sup>	280 <sup>c</sup>
Piernas, %	28.75 <sup>a</sup>	29.05 <sup>a</sup>	29.42 <sup>a</sup>	29.01 <sup>a</sup>	28.75 <sup>a</sup>	28.96 <sup>a</sup>

(\*) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

*1* Valores son promedios de cinco repeticiones de 10 aves cada una (50 aves por tratamiento).

*a-d* Valores con letras diferentes difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

#### 4.7. Características óseas de la tibia

Los resultados de las características de la tibia (en base seca) de los pollos que consumieron las diferentes dietas experimentales y sacrificadas a los 28 días de edad, se presentan en el Cuadro 6. El mejor peso de tibia registró T1 (3286 mg) y es estadísticamente superior al resto de los tratamientos ( $P < 0.05$ ), asimismo las fitasas A (3070 mg), B (2896 mg) y C (2872 mg) fueron similares entre sí pero diferentes a D (2583 mg), de igual forma estas fitasas difieren estadísticamente de T2 (1973 mg). La misma característica estadística se observa para el peso de ceniza.

El mayor porcentaje de ceniza registrado fue por T1 (44.40%), no siendo estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) con adición de las fitasas, a excepción de la fitasa B (42.47%) y T2 (41.56%), estos datos se asemejan a los reportados por Kocabagli (2001) y Panda *et al.*, (2007), quienes durante 21 días usaron 300 y 500 FTU de fitasas con bajos contenidos de fósforo, logrando rendimientos de 44.1% y 44.92% respectivamente.

Estos resultados nos indican que, existe una mejora en la liberación del fósforo fítico del alimento, causado por las fitasas y su consecuente aprovechamiento, reflejado en el almacenamiento en tejidos óseos, corroborándose así que la ceniza del hueso es el parámetro más usado para cuantificar la mineralización ósea (García y Dale 2006).

Asimismo, Uculmana (2015a) demostró que el fósforo, además del calcio, es el mineral que determina la cantidad de ceniza almacenada en el hueso, donde probó niveles crecientes de calcio en pollos de carne, encontrando que a los 21 días de edad, en la relación 1.55 (Ca:P), porcentajes de ceniza de 44.12%, resultados que se asemejan con este experimento, cuando comparamos en la relación 1.77 en niveles normales de fósforo donde se alcanzó 44.4%. Esta misma tendencia se observa cuando se usa fitasas, los datos están entre 42.5 y 44% de ceniza, si bien la relación fue de 3.2 (nivel deficiente en fósforo), pero se observa el efecto de la liberación del fósforo por las enzimas.

**Cuadro 6: Características de tibias de pollos de carne de 28 días de edad alimentados con dietas bajas en fósforo disponible y suplementadas con diferentes fuentes de fitasas**

Tratamiento*	Característica de Tíbia (Base Seca)		
	Peso de Tibia Mg	Peso de Ceniza mg	Ceniza %
<b>T1</b>	3286 <sup>1a</sup>	1459 <sup>a</sup>	44.40 <sup>a</sup>
<b>T2</b>	1973 <sup>d</sup>	820 <sup>d</sup>	41.56 <sup>c</sup>
<b>T3</b>	3070 <sup>b</sup>	1321 <sup>b</sup>	43.03 <sup>abc</sup>
<b>T4</b>	2896 <sup>b</sup>	1230 <sup>b</sup>	42.47 <sup>bc</sup>
<b>T5</b>	2872 <sup>b</sup>	1243 <sup>b</sup>	43.28 <sup>abc</sup>
<b>T6</b>	2583 <sup>c</sup>	1134 <sup>c</sup>	43.90 <sup>ab</sup>

(\*) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

1 Valores son promedios de cinco repeticiones de 10 aves cada una (50 aves por tratamiento).

a-d Valores con letras diferentes difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

La relación entre el peso vivo, rendimiento de carcasa y porcentaje de ceniza en tibias de animales que recibieron los tratamientos T2, T3, T4, T5 y T6 respecto al T1, que sería el 100%, se muestran en el Cuadro 7. Es notorio el efecto que tienen las fitasas sobre el porcentaje relativo en el peso vivo, rendimiento de carcasa y ceniza de la tibia, el uso de las fitasas mejora los parámetros evaluados ya que la relación entre T1 con los tratamientos donde están presentes las fitasas es muy estrecha, no siendo así para el caso de T2 donde el porcentaje de fósforo disponible se ajusta al mínimo del requerimiento y no hay presencia de la enzima.

#### **4.1. Características morfométricas de la tibia**

En el cuadro 8 y los anexos IX, X y XI se muestran los resultados del peso (mg), largo (mm), diámetro de diáfisis (mm), volumen (cm<sup>3</sup>) e índice de forma (mm) del hueso tibia para todos los tratamientos en estudio.

En general, se observa que la adición de enzimas fitasas a dietas deficientes en fósforo mejora significativamente ( $P < 0.05$ ) el peso del hueso tibia en relación a dietas con niveles normales de fósforo (3787 mg) y mucho más aún si se compara con dietas en niveles deficientes sin la adición de la enzima (2777 mg), particularmente la fitasa B logra mejores pesos (4165 mg) que todos los tratamientos en general; comparativamente, Kocabagli (2001) encontró resultados más satisfactorios a los 21 días, donde 300 U/kg en 0.26 % Pd, fueron necesarios para lograr 6599 mg de peso.

La adición de las enzimas fitasas en cualquiera de los tratamientos, la tendencia es a mejorar el largo de la tibia si se compara con T1 (78.22 mm), siendo similar y no habiendo diferencias estadísticas significativas con las fitasas A (77.01 mm), C (75.46 mm) y D (72.92 mm); en tanto la fitasa B y T2 reportan los valores más bajos (71.32 mm y 61.02 mm respectivamente) y difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ) con todos los tratamientos. Estos datos son diferentes e inferiores a lo reportado por Kocabagli (2001) y Mondal *et al.*, (2007) quienes encontraron largos de 92 y 23 mm (500 y 700 U de fitasas respectivamente) en 21 días experimentales.

**Cuadro 7: Porcentaje relativo, respecto al control positivo, de peso vivo, rendimiento de carcasa y contenido de ceniza en tibias de los animales experimentales**

Tratamiento*	Peso Vivo		Rendimiento Carcasa		Ceniza en Tibia	
	G	% Relativo	%	% Relativo	%	% Relativo
<b>T1</b>	1419	100.00	82.55	100.00	44.40	100.00
<b>T2</b>	896	63.14	75.85	91.88	41.56	93.60
<b>T3</b>	1340	94.43	81.56	98.80	43.03	96.91
<b>T4</b>	1238	87.24	80.17	97.12	42.47	95.65
<b>T5</b>	1311	92.39	80.42	97.42	43.28	97.48
<b>T6</b>	1177	82.94	80.85	97.94	43.90	98.87

(\*) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

**Cuadro 8: Respuesta de las características morfométricas de las tibias de pollos de carne de 28 días de edad**

MEDICIONES	Tratamientos*					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
<b>Peso, mg</b>	3787 <sup>1bc</sup>	2777 <sup>d</sup>	3599 <sup>c</sup>	4165 <sup>a</sup>	3975 <sup>ab</sup>	3705 <sup>bc</sup>
<b>Largo, mm</b>	78.22 <sup>a</sup>	61.02 <sup>c</sup>	77.01 <sup>ab</sup>	71.32 <sup>b</sup>	75.46 <sup>ab</sup>	72.94 <sup>ab</sup>
<b>Diámetro de diáfisis, mm</b>	6.71 <sup>ab</sup>	6.16 <sup>b</sup>	6.63 <sup>ab</sup>	6.55 <sup>ab</sup>	6.75 <sup>a</sup>	6.45 <sup>ab</sup>
<b>Volumen, cm<sup>3</sup></b>	4.68 <sup>a</sup>	2.51 <sup>d</sup>	4.43 <sup>a</sup>	3.17 <sup>c</sup>	3.70 <sup>b</sup>	3.43 <sup>bc</sup>
<b>Índice de forma, mm</b>	11.70 <sup>a</sup>	9.84 <sup>b</sup>	11.66 <sup>a</sup>	10.85 <sup>a</sup>	11.25 <sup>a</sup>	11.34 <sup>a</sup>

(\* ) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

1 Valores son promedios de cinco repeticiones de 10 aves cada una (50 aves por tratamiento).

a-d Valores con letras diferentes difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

En el diámetro de diáfisis tibial, la fitasa C tuvo una mayor respuesta numérica (6.75 mm), siendo similares con T1 (6.71 mm), fitasas A (6.63 mm), B (6.55 mm) y D (6.45 mm), pero si comparamos con T2 (6.16 mm), se encuentran diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) por obtener el menor valor.

Para el caso del volumen, la fitasa A ( $4.43 \text{ cm}^3$ ) fue similar con T1 ( $4.68 \text{ cm}^3$ ), éstos difieren significativamente ( $P < 0.05$ ) con el resto de los tratamientos, asimismo la fitasa C ( $3.70 \text{ cm}^3$ ) es similar con la fitasa D ( $3.43 \text{ cm}^3$ ), pero éste es diferente con la fitasa B, en tanto T2 el que muestra menor volumen ( $2.51 \text{ cm}^3$ ) y difiere con todos.

El índice de forma, fue la característica donde se puede notar el efecto positivo que tiene la adición de las enzimas fitasas, ya que no difieren de T1 (11.70 mm) si comparamos con todos los tratamientos que recibieron cualesquiera de las enzimas, pero, si hubo diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) con T2 (9.84 mm).

#### **4.2. Indicadores de mineralización de la tibia**

En el cuadro 9 y anexos XI, XII y XIII, se observan las respuestas del grado de mineralización de las tibias expresados en Densidad ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ), Índice de Seedor ( $\text{mg}/\text{mm}$ ), Índice de Quetelet ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ ) e Índice de robusticidad (mm).

Los resultados en relación a la densidad, se observa que la fitasa B ( $1511 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) logra la mayor fortaleza ósea significativa ( $P < 0.05$ ) si comparamos con todos los tratamientos, llama la atención que T2 ( $1152 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) sean similares con las fitasas C ( $1092 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) y D ( $1111 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) ya que T2 pertenece a una dieta con nivel deficiente de P y sin adición de fitasa donde no hay efecto de las enzimas, pero también estos últimos tratamientos difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ) de T1 ( $815 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) y de la fitasa A ( $816 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ). Rath *et al.* (2000), demostraron que la densidad ósea es un indicador de la fortaleza del hueso y refleja el contenido mineral del hueso, por lo cual a menor densidad ósea aumenta el riesgo de fracturas. Por todo ello, al obtenerse valores diferentes de densidad más aún en T1 ( $815 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ) que es

**Cuadro 9: Respuesta del grado de mineralización de las tibias de pollos de carne de 28 días de edad**

MEDICIONES	Tratamientos*					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Densidad, mg/cm <sup>3</sup>	815 <sup>1c</sup>	1152 <sup>b</sup>	816 <sup>c</sup>	1511 <sup>a</sup>	1092 <sup>b</sup>	1111 <sup>b</sup>
Índice de Seedor, mg/mm	48.40 <sup>bcd</sup>	44.64 <sup>d</sup>	46.65 <sup>cd</sup>	56.23 <sup>a</sup>	52.59 <sup>ab</sup>	50.74 <sup>bc</sup>
Índice de Quetelet, mg/mm <sup>2</sup>	0.62 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	0.70 <sup>a</sup>	0.70 <sup>a</sup>
Índice de robusticidad, mm	5.02 <sup>a</sup>	4.47 <sup>c</sup>	5.03 <sup>a</sup>	4.64 <sup>bc</sup>	4.78 <sup>b</sup>	4.73 <sup>b</sup>

(\*) T1 = DNP (0.45% Pd); T2 = DDP (0.25% Pd); T3 = DDP + Fitasa A (100 g/TM); T4 = DDP + Fitasa B (100 g/TM); T5 = DDP + Fitasa C (50 g/TM) y T6 = DDP + Fitasa D (50 g/TM).

1 Valores son promedios de cinco repeticiones de 10 aves cada una (50 aves por tratamiento).

a-d Valores con letras diferentes difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

el tratamiento con niveles normales de fósforo tiene mayor riesgo de fracturas y contraviene a su mayor contenido de ceniza.

En el Índice de Seedor, que sirve para describir la mineralización del hueso, también se observa el efecto positivo de la adición de fitasas, es así que, las fitasas B y C son similares y lograron mayores valores (56.23 y 52.59 mg/mm respectivamente), aunque la fitasa C sea similar con T1 (48.40 mg/mm) y la fitasa D (50.74 mg/mm), como también D es similar a T1 y a la fitasa A (46.65 mg/mm), contrariamente T2 difiere estadísticamente ( $P < 0.05$ ) con un valor debajo de todos (44.64 mg/mm); lo que nos indica que las fitasas B y C lograron valores superiores al resto de tratamientos y por consiguiente huesos más densos.

En relación al Índice de Quetelet, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio, aunque sí diferencias numéricas, donde la adición de las fitasas para el caso específico de A ( $0.61 \text{ mg/mm}^2$ ) reporta datos similares a T1 ( $0.62 \text{ mg/mm}^2$ ), con tibias más livianas pero con mayor largo.

Por otro lado, el Índice de Robusticidad indica que el hueso es más fuerte cuanto menor es este parámetro (Monteagudo et al., 1997), en este caso T2 (4.47 mm) logra ser significativamente mejor que todos los tratamientos con excepción de la fitasa B (4.64 mm), aunque éste último resulta similar de las fitasas C (4.78 mm) y D (4.73 mm). El nivel normal de P (5.02 mm) y la fitasa A (5.03 mm) muestran índices más altos y significativamente diferentes del resto, siendo los huesos menos fuertes.

Las características morfométricas y el grado de mineralización de las tibias logrados en este ensayo luego de 28 días, mantienen tendencia a los reportados por Uculmana (2015a), quien a los 21 días logró resultados similares entre ellos cualquiera sea la relación Ca:P, si bien, fue en menor tiempo, pero los datos logrados en el presente trabajo son mayores y asimismo fueron similares entre ellos usando niveles normales y deficientes en fósforo con la adición de fitasas.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo el ensayo se observó:

1. Las respuestas productivas de las aves que recibieron la dieta deficiente en fósforo más las diferentes fitasas fueron menores que el de las aves alimentadas con la dieta normal en fósforo.
2. La menor respuesta productiva e integridad ósea obtenidas en el presente estudio correspondió al grupo de aves alimentadas con la dieta deficiente en fósforo.
3. Los mayores pesos, en base seca, de la tibia y ceniza correspondieron a las aves alimentadas con la dieta normal en fósforo y los valores menores a aquellos provenientes de aves alimentadas con nivel deficiente.
4. La respuesta productiva e integridad ósea de las aves que consumieron la dieta deficiente en fósforo con la adición de las diferentes fitasas fueron intermedios entre aquellos que recibieron la dieta normal de fósforo y la dieta deficiente en fósforo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se recomienda:

1. Evaluar diferentes dosis (g/TM) de cada fuente de fitasa comercial con el propósito de determinar la dosis exacta para que la respuesta productiva sea igual a la obtenida con una dieta normal en fósforo.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

AGUAVIL, J. 2012. Evaluación del efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* sobre el sistema gastrointestinal en pollos broiler ross-308 en Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis. Escuela Politécnica del Ejército. [http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5213/1/T-ESPE-IAS A % 20II %20-%20002399.pdf](http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5213/1/T-ESPE-IAS%20II%20-%20002399.pdf)

AMMAD, J.A. 2008. Effects of different level of Phytase on Broilers Performance and Body Status of Phosphorus. Submitted In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Animal Production, Faculty of Graduate Studies at An Najah National University at Nablus, Palestine.

ANGEL, R.; SAYLOR, W. W.; MITCHELL, A. D.; POWERS, W. and APPLGATE, T. J. 2006. Effect of dietary phosphorus, phytase, and 25-hydroxycholecalciferol on broiler chicken bone mineralization, litter phosphorus, and processing yields. *Poult. Sci.* 85:1200-1211.

APPLGATE, T. J.; JOERN, B. C.; NUSSBAUM-WAGLER, D. L. and ANGEL, R. 2003. Water-soluble phosphorus in fresh broiler litter is dependent upon phosphorus concentration fed but not on fungal phytase supplementation. *Poult. Sci.* 82:1024-1029.

ASSUENA, V.; JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE, K. F.; LAURENTIZ, A. C.; FILARDI, R. S. and SGAVIOLI, S. 2009. Effect of Dietary Phytase Supplementation on the Performance, Bone Densitometry, and Phosphorus and Nitrogen Excretion of Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science.* v.11/n.1/25 – 30.

BAKER, D. H., and LEWIS A. J.. 1995. Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals, and vitamins. C. B. Ammerman, ed. San Diego, AC: Academic Press.

CALZADA, B. J. 1982. Métodos estadísticos para la investigación. 5<sup>ta</sup> Edición. UNALM, Lima Perú.

COBB-VANTRES. 2008. Guía de manejo del pollo de engorde. <http://www.cobb-vantress.com/contactus/brochures/BroilerGuideSPAN.pdf>.

COTO, C.; YAN, F.; CERRATE, S.; WANG, Z.; SACAKLI, P.; HALLEY, J. T.; WIERNUSZ, C. J.; MARTINEZ, A. y WALDROUP, P. W. 2008. Effects of dietary levels of calcium and nonphytate phosphorus in broiler starter diets on live performance, bone development and growth plate conditions in male chicks fed a corn-based diet. *International Journal of Poultry Science* 7 (7): 638-645.

CROMWELL, G. L. 1992. The biological availability of phosphorus in feedstuffs for pigs. *Pig News and Information* 13(2), 75N.

DUNCAN, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 1: 1-42.

EECKHOUT, W. and DE PAEPE, M. 1996. In vitro and in vivo comparison of microbial and plant phytase, In: Coelho, M.B. and Kornegay, E.T. (eds) *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*. BASF Corporation, Mount Olive, New Jersey, pp. 237–241.

FIELD, R. A. 1999. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. *Meat Sci.* 55:255-264.

FIELD, R. A.; RILEY, M. L.; MELLO, F. C.; CORBRIDGE, M. H. y KOTULA, A. W. 1974. Bone composition in cattle, pigs, sheep and poultry. *J. Anim. Sci.* 39:493-499.

GARCIA, A. R. y DALE, N. M. 2006. Foot ash as a means of quantifying bone mineralization in chicks. *Journal app. Poult. Res.* 15:103-109.

GILLIS, M. B.; NORRIS, L. C. y HEUSER, G. F. 1954. Studies on the biological value of inorganic phosphates. *J. Nutr.* 52:115-12.

GODOY, S.; HERNANDEZ G. y CHICCO C. 2002. Efecto de la suplementación de fitasa microbial en la utilización de fósforo fítico en pollos de engorde alimentados con dietas de maíz – soya. Revista Científica Instituto de Investigaciones Zootécnicas (Maracay). Vol. XII. Suplemento 2. 508 – 512.

HARLAND, B.F. and MORRIS, E. R. 1995. Phytate: a good or a bad food component. Nutrition Research 15, 733–754.

HATSUMI, F.E.; KAZUE, S.N.; BARROS, D.L.R; NEME, R.; KOCHENBORGER, F.J.B. y MÁRCIA, M.S. 2008. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. Rev. Bras. de Zoot., v.37, n.4, p.629-635.

HEMME A.; SPARK, M.; WOLF, M.; PASCHERTZ, H. y KAMPHUES, J. 2005. Effects of different phosphorus sources in the diet on bone composition and stability (breaking strength) in broilers. J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr. 89:129-133.

HUGHES, A.; DAHIYA, J.; WYATT, C. and CLASSEN, H. 2008. The efficacy of quantum phytase in a forty-week production trial using white leghorn laying hens fed corn-soybean meal-based diets. Poultry Sci. 87: 1156-1161.

HUSSEIN, A. S. 2005. The effect of exogenous phytase in broiler production on organic phosphorous utilization. Collage of food and agriculture – 40.

JONGBLOED, A. W. and KEMME, P. A. 1990. Apparent digestible phosphorus in the feeding of pigs in relation to availability, requirement and environment. 1. Digestible phosphorus in feedstuffs from plant and animal origin. Netherlands Journal of Agriculture Science 38, 567.

JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z. and KEMME, P. A. 1992. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus and phytic acid in different sections of the alimentary tract. Journal of Animal Science 70, 1159–1168.

KARIMI, A.; BEDFORD, M.R.; SADEGHI, G.H. and GHOBADI, Z. 2011. Influence of Dietary Non-phytate Phosphorous Levels and Phytase Supplementation on the Performance and Bone Characteristics of Broilers. *Braz. Jour. of Poultry Science*, v.13, n.1. p.43-51.

KNUCKLES, B. E.; KUZMICKY, D. D. and BETSCHART, A. A. 1985. Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility. *Journal of Food Science* 50, 1080–1082.

KOCABAGLI, N. 2001. The Effect of Dietary Phytase Supplementation at Different Levels on Tibial Bone Characteristics and Strength in Broilers. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 25; 797 – 802.

KORNEGAY, E. T. 2001. Digestion of Phosphorus and Other Nutrients: the Role of Phytases and Factors Influencing Their Activity. CAB International. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Department of Animal and Poultry Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University.

LEESON, S.; NAMKUNGI, H.; COTTRILL, M. and FORSBERG, C.W. 2000. Efficacy of new bacterial phytase in poultry diets. *Can. J. Anim. Sci.* 80: 527–528.

LEYTEM, A. B.; PLUMSTEAD, P. W.; MAGUIRE, R. O.; KWANYUEN, P. and BRAKE, V. 2007. What aspect of dietary modification in broilers controls litter water-soluble phosphorus: dietary phosphorus, phytase, or calcium? *J. Environ. Qual.* 36:453-463.

LIEBERT, F.; WECKE, C. and SCHONER, F. J. 1993. Phytase activities in different gut contents of chickens are dependent on level of phosphorus and phytase supplementations. In: Wenk, C. and Boessinger, M. (eds) *Enzymes in Animal Nutrition*. Proceedings of 1st Symposium Kartause Ittingen, Switzerland, October 13–16, p. 202.

MONDAL, M. K.; PANDA, S and BISWAS, P. 2007. Effect of Microbial Phytase in Soybean Meal Based Broiler Diets Containing Low Phosphorous. *International Journal of Poultry Science* 6 (3): 201-206.

MONTEAGUDO, M. D.; HERNANDEZ, E. R.; SECO, C.; GONZALES-RIOLA, J.; REVILLA, M.; VILLA, L. F. y RICO H. 1997. Comparison of the bone rousticity index and bone weight/bone length index with the results of bone densitometry and bone histomorphometry in experimental estudies. *Acta anat.* 160:195-199.

MUTUS, R.; KOCABAGLI, N.; ALP, M.; ACAR, N.; EREN, M. and GEZEN, S. S. 2006. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bon characteristics and strength in broilers. *Poult. Sci.* 85:1621-1625.

NAIR, V.C. and DUVNJAK, Z. 1991. Phytic acid content reduction in canola meal by various microorganisms in a solid state fermentation process. *Acta Biotechnology* 11, 211–218.

NELSON, T.S., SHIEH, T.J., WODZINSKI, R.J. and WARE, J.H. 1971. Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks. *Journal of Nutrition* 101, 1289–1293.

NYS, Y.; FRAPIN, D. and POINTILLART, P. 1996. Occurrence of phytase in plants, animals and microorganisms. In: Coelho, M.B. and Kornegay, E.T. (eds) *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*. BASF Corporation, Mount Olive, New Jersey, pp. 213–240.

O'DELL, B. L. and DE BORLAND, A. R. 1976. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 24 (4), 804–808.

OLIVEIRA, M. C.; MARQUES, R. E.; GRAVENA, R. A.; TRALDI, A. B.; GODOY, C. R. e BARBOSA DE MORAES, V. M. 2009. Fitase em dietas com níveis reduzidos de fósforo não-fitico para frangos de corte. *Biotemas*, 22 (4): 169-176.

ONYANGO, E. M., M. R. BEDFORD and O. ADEOLA. 2005. Efficacy of an Evolved *Escherichia coli* Phytase in diets of broiler chicks. *Poultry Science*. 84:248–255.

ONYANGO, E.M.; HESTER, P.Y.; STROSHINE, R. 2003. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*. 82: 1787-1791.

PALLAUF, J. and RIMBACH, G. 1995. Recent results on phytic acid and phytase. *Proceedings of 5th Forum Animal Nutrition*. May 4–5. BASF, p. 43.

PANDA, A. K.; RAMA RAO, S. V.; RAJU, V. L. N.; GAJULA, Sh. S. and BRANJA, Sh. K. 2007. Performance of Broiler Chickens Fed Low Non Phytate Phosphorus Diets Supplemented with Microbial Phytase. *The Journal of Poultry Science*, 44: 258-264.

PENN, C. J.; MULLINS, G. L.; ZELAZNY, L. W.; WARREN, J. G. and McGRATH, J. M. 2004. Surface runoff losses of phosphorus from Virginia soils amended with turkey manure using phytase and high available phosphorus corn diets. *J. Environ. Qual.* 33:143-1439.

PERSIA, M. E. 2010. Effect of enzyme supplementation on intestinal environment and poultry performance. DSM Nutritional Products Inc. Technical Symposium Multi-State Poultry Meeting. May 25-27.

POURREZA, J. and CLASSEN, H.L. 2001. Effects of Supplemental Phytase and Xylanase on Phytate Phosphorus Degradation, Ileal Protein and Energy Digestibility of a Corn-soybean-wheat Bran Diets in Broiler Chicks. *J. Agric. Sci. Technol.* Vol. 3: 19-25.

QUARANTELLI, A.; CACCHIOLI, A.; ROMANELLI, S.; RIGHI, F.; ALPIGIANI, I. and GABBI, C. 2007. Effects of different levels of dietary biotin on the performance and bone structure of broilers. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:5-17.

RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E., and BALOG, J. M. 2000. Factors Regulating Bone Maturity and Strength in Poultry. *Poult. Sci.* 79:1024-1032.

RAVINDRAN, V., S. CABAUG, G. RAVINDRAN, AND W. L. BRYDEN. 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poult. Sci.* 78:699–706.

RAVINDRAN, V., W. L. BRYDEN AND E. T. KORNEGAY. 1995. Phytates: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. and Avian Biol. Rev.* 6:125-143.

RUTHERFURD, S. M., T. K. CHUNG, P. C. H. MOREL AND P. J. MOUGHAN. 2004. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino Acids in a low-phosphorus diet for broilers. *Poultry Science.* 83:61–68.

RUTTEN, M.; LETERRIER, C.; CONSTANTIN, P.; REITER, K. and BESSEI, W. 2002. Bone development and activity in chickens in response to reduced weight-load on legs. *Anim. Res.* 51:327-336.

SATO, M. 1995. Comparative X-ray densitometry of bones from ovariectomized rats. *Bone*, 17(4) Supplement 157S-162S.

SAS Institute. 2000. *The SAS System for Windows. User's Guide Statistics. Version Eight* SAS Institute, INC., Cary, USA.

SEBASTIAN, S., S. P. TOUCHBURN, E. R. CHAVEZ, and P. C. LAGUE. 1996. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. *Poult. Sci.* 75:1516–1523.

SEEDOR, J. G.; QUARTUCCIO, H. A. and THOMPSON, D. D. 1991. The bisphosphonate alendronate (Mk-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6(4):339-346.

SELLE, P. and RAVINDRAN V. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135: 1-41.

SHAW, A. L.; BLAKE, J. P. and GORDON R. W. 2010. Evaluation of commercial phytase enzymes on performance and tibia-breaking strength of male broiler chicks. *Journal Applied Poultry Research.* 19:415-421.

SHIRLEY, R. B. y EDWARDS, H. M. 2003. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poultry Science* 82: 671–680

SIMONS, P.C., H.A. VERSTEEGH, A.W. JONGBLOED, P.A. KEMME, P. SLUMP, K.D. BOS, M.G. WOLTERS, R.F. BEUDEKER and G.J. VERSCHOOR. 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nutr.*, 64: 525-540.

SINGH, M. and KRIKORIAN, A. D. 1982. Inhibition of trypsin activity by phytate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30, 799–800.

SLOMINSKI, B. A. 2010. *Recent Advances in Enzymes for Poultry Diets*. University of Manitoba. The Poultry Federation.

UCULMANA M., C. 2015a. Efecto de la relación calcio:fósforo disponible sobre el crecimiento alométrico, morfometría, integridad y mineralización ósea en pollos de engorde. Tesis para optar el título de ingeniero Zootecnista. UNALM. Lima – Perú.

UCULMANA M., C.; MARTÍNEZ P., D.; VÍLCHEZ P., C. 2015b. Morfometría ósea y crecimiento alométrico como indicadores de porcentaje de ceniza en tibia en pollos de engorde. Póster XXIV Congreso Latinoamericano de Avicultura. Septiembre 2015. Ecuador.

SOMKUWAR, A. P.; RAVIKANTH, K.; MAINI, S.; REKHE, D. S.; PATIL, M. K. and BALLURKAR, B. 2010. Phytase with synergistic herbs: an option to reduce environmental pollution by partial replacement of inorganic phosphorus in broiler ration. *International Journal of Poultry Science* 9(4):390-394.

WILLIAMS, B., S. SOLOMON, D. WADDINGTON, B. THORP, AND C. FARQUHARSON. 2000. Skeletal development in the meat-type chicken. *Br. Poult. Sci.* 41:141-149.

WOYENGO, T. A.; GUENTER, W.; SANDS, J. S.; NYACHOTI, C. M. and MIRZA, M. A. 2010. Nutrient utilization and performance responses of broilers fed a wheat-based diet

supplemented with phytase and xylanase alone or in combination. *Animal Feed Science and Technology*. Volume 146, 113-123.

YAN, F., KERSEY, J. H.; FRITTS, C. A. and WALDROUP, P. W. 2006. Effect of phytase Supplementation on the calcium requirement of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*. 5 (2): 112-120.

YI, Z. and KORNEGAY, E. T. 1996. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. *Animal Feed Science and Technology* 61, 361–368.

ZHANG, B. and CONN, C. N. 1997. The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poultry Science* 76:1698-1701.

## **ANEXOS**

**Anexo I. Certificado de análisis de la fitasa A: ABTUSA**



**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

**Date:** 12/15/10  
**Product:** Phytase  
**Lot #** 10103132-205  
**Date of Assay:** 12/23/10

Report of Analysis

Test--Phytase

**Guaranteed Analysis**

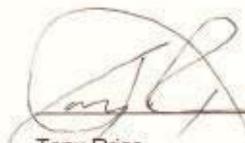
5,000 ftu/gm

**Test Results**

7,740 ftu/gm

**Method Reference**

Phytase-AOAC Method – AOAC 2000.12

  
Tony Price  
Lab Technician



## Anexo II. Certificado de análisis de la fitasa B: LUMIPHYTASE

**LUMIS**  
ENZYMES

LET'S MAKE INNOVATIVE SOLUTIONS

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

**Product Name** : *LumiPhytase SXG* **Mfg Date:** *Feb 2011*

**Lot/Batch Number** : *LP5XG/12/02/2011* **Exp. Date:** *Feb 2012*

**Analytical Report No.** : *ARLP5XG12022011*

<i>Enzyme</i>	<i>Unit</i>	<i>Minimum Enzyme Activity</i>	<i>Results</i>
<i>PHYTASE</i>	<i>FTU/gm</i>	<i>5,000</i>	<i>5,300</i>

#### Microbial Properties

<i>Test</i>	<i>Specifications</i>	<i>Results</i>
Total Viable Count	Not more than 50,000 /gm	Pass
Yeast & Mold Count	Less than 100/gm	Pass
Pathogens	Nil / gm	Nil
Coliforms	Less than 30/gm	Pass

#### Physical Properties

**Appearance** *Light brown to brown color granules* **Pass**

*Product Complies / does not comply with the prescribed in-house standards.*

**Released on**

**Analytical Chemist**

**QC In-charge**

*9<sup>th</sup> Feb 2011.*

Lumis Biotech Pvt. Ltd.

501, Area Chambers, Tardoo Road, Mumbai 400 014, India. Tel: +91 22 66652090 - 94, Fax: 0091 22 23515014  
Web Site: [www.lumisbiotech.com](http://www.lumisbiotech.com), E-mail: [achandra@lumisbiotech.com](mailto:achandra@lumisbiotech.com)

### Anexo III. Ficha técnica de la fitasa C: NATUZYME QP10



#### Least Cost Formulation Matrix for Natuzyme QP10000

Date: 12 April 2011

Each dose of Natuzyme QP 10000 is equivalent to: Nutrient	( Dose: 50 g/t )		( Dose: 30 g/t )		( Dose: 50 g/t )	
	Broiler		Layer		Swine	
Phosphorous	1200 g	2400%	600 g	2000%	1200 g	2400%
Dicalcium Phosphate (DCP), 23 % avail. Phos.	5110 g	10220%	3066 g	10220%	5110 g	10220%
Calcium	1150 g	2300%	510 g	1700%	1150 g	2300%
Lysine	120 g	240%	72 g	240%	120 g	240%
Methionine	10 g	20%	6 g	20%	10 g	20%
Cystine	30 g	60%	18 g	60%	30 g	60%
Threonine	130 g	260%	78 g	260%	130 g	260%
Tryptophan	30 g	60%	18 g	60%	30 g	60%
Isoleucine	120 g	240%	72 g	240%	120 g	240%
Crude Protein	2250 g	4500%	1350 g	4500%	2000 g	4000%
Metabolisable Energy	60,000 kcal		60,000 kcal		12,000 kcal	

1kg of Natuzyme QP10000 is equivalent to: Nutrient	Broiler		Layer		Swine	
	Phosphorous	24000 g	2400%	20000 g	2000%	24000 g
Dicalcium Phosphate (DCP), 23 % avail. Phos.	102200 g	10220%	102200 g	10220%	102200 g	10220%
Calcium	23000 g	2300%	17000 g	1700%	23000 g	2300%
Lysine	2400 g	240%	2400 g	240%	2400 g	240%
Methionine	200 g	20%	200 g	20%	200 g	20%
Cystine	600 g	60%	600 g	60%	600 g	60%
Threonine	2600 g	260%	2600 g	260%	2600 g	260%
Tryptophan	600 g	60%	600 g	60%	600 g	60%
Isoleucine	2400 g	240%	2400 g	240%	2400 g	240%
Crude Protein	45000 g	4500%	45000 g	4500%	40000 g	4000%
Metabolisable Energy	1,200,000 kcal		1,200,000 kcal		240,000 kcal	

Bioproton Pty Ltd  
 ABN 19 059 093 417  
 Head Office: 38/141 Station Road  
 Sunnybank, Brisbane  
 4109 QLD, AUSTRALIA

Tel: + 61 7 3344 1490  
 Tel: + 61 7 3345 9115  
 Fax: + 61 7 3345 9582  
 Email: [natuzyme@bioproton.com.au](mailto:natuzyme@bioproton.com.au)  
 web: [www.bioproton.com.au](http://www.bioproton.com.au)

## ANEXO IV. Ficha técnica de la fitasa D: CHALLENGE



BEIJING CHALLENGE BIO-TECHNOLOGY LIMITED COMPANY

---

### SPECIFICATION

**1. Name of Product:** Phytase 10000U/g Coated

**2. Manufacturer's Name and Address:**

Beijing Challenge Bio-technology Limited Company  
12 Zhongguancun South Street, Haidian District, Beijing, 100081 China

**3. Chemical Data:** Particle size: 350 - 800  $\mu\text{m}$   
Phytase activity: min. 10000U/g

**4. Physical Data:** Appearance: Yellow Granule

**5. Dosage and Matrix Value :**

The dosage depends on the species, feed composition, desired effect on feed components.  
Dosage recommendations are as following:

Animal Species	70-85°C	85-95°C
Layer	40-50 g/MT	50-60 g/MT
Broiler	45-55 g/MT	55-75 g/MT
Egg Duck	40-50 g/MT	50-60 g/MT
Meat Duck	45-55 g/MT	55-75 g/MT
Pig	45-55 g/MT	55-75 g/MT

Animal Species	Layer	Broiler	Swine
Phosphorus (%)	4660	2300	2400
Available Phosphorus (%)	3920	2000	2000
Calcium (%)	3340	2000	2300
Crude Protein (%)	4500	4500	4000
Lysine (%)	240	240	160
Methionine (%)	20	20	50
Cystine (%)	60	60	60
ME (Mcal/kg)	1060	1060	190

**6. Origin:** Our phytase is originated from E.Coli which produces 6-phytase.

**7. Package:** 25 kg bags

**8. Shelf Life:** 12 months from date of production.

**9. Storage:** Under proper conditions in a dry, well ventilated and cool place with packaging unopened.

**ANEXO V. Requerimientos nutricionales para pollos de carne Cobb-500 (2008)**

Nutrientes	Inicio	Crecimiento	Finalización
	0 – 10 días	11 – 22 días	23 – 42 días
E. Metabolizable (Kcal/Kg)	2988	3083	3176
Proteína %	21	19	18
Lisina total, %	1.20	1.10	1.05
Lisina digestible	1.08	0.99	0.95
Metionina total, %	0.46	0.44	0.43
Metionina + Cistina total,%	0.89	0.84	0.82
Treonina, %	0.79	0.74	0.72
Triptófano, %	0.20	0.19	0.19
Arginina, %	1.26	1.17	1.13
Sodio,%	0.22	0.19	0.19
Calcio, %	1.00	0.96	0.90
Fósforo disponible, %	0.50	0.48	0.45
Manganeso, g	100	100	100
Selenio, g	0.30	0.30	0.30
Zinc, g	100	100	100
Cobre, g	15	15	15
Hierro, g	40	40	40
Vitamina A, MIU	13	11	10
Vitamina D3, MIU	5	5	5
Vitamina E, KIU	80	60	50
Vitamina K, g	4	3	3
Vitamina B1, g	4	2	2
Vitamina B2, g	9	8	8
Vitamina B6, g	4	4	3
Vitamina B12, mg	20	15	15
Biotina, mg	150	120	120
Colina, mg	400	400	350
Ácido fólico, g	2	2	1.5
Ácido pantoténico, g	15	12	10
Ácido nicotínico, g	60	50	50

*Fuente: Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de carne Cobb 500, 2008.*

**ANEXO VI: Incremento de peso acumulado semanal de los pollos (g/ave)**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>SEMANA</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>T1</b>	160.20	412.40	861.20	1374.40
<b>T2</b>	130.20	314.80	548.80	850.80
<b>T3</b>	156.20	413.60	818.40	1296.60
<b>T4</b>	153.60	404.80	777.60	1192.80
<b>T5</b>	153.40	408.80	791.20	1266.60
<b>T6</b>	144.60	377.60	699.00	1133.20

**ANEXO VII: Consumo de alimento acumulado semanal de los pollos (g/ave)**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>SEMANA</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>T1</b>	174	548	1119	1919
<b>T2</b>	141	413	816	1603
<b>T3</b>	165	537	1077	1846
<b>T4</b>	159	511	992	1747
<b>T5</b>	168	540	1048	1812
<b>T6</b>	161	509	998	1776

**ANEXO VIII: Conversión alimenticia acumulada semanal de los pollos**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>SEMANA</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>T1</b>	1.08	1.33	1.30	1.39
<b>T2</b>	1.09	1.32	1.49	1.89
<b>T3</b>	1.06	1.30	1.32	1.43
<b>T4</b>	1.04	1.26	1.28	1.47
<b>T5</b>	1.09	1.32	1.32	1.43
<b>T6</b>	1.11	1.35	1.43	1.57

**ANEXO IX: Peso (mg) y Largo (mm) de la tibia derecha a los 28 días**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>REPETICION</b>	<b>PESO (mg)</b>	<b>LARGO (mm)</b>
<b>Control Positivo</b>	1	3826.2	78.85
	2	3750.6	78.20
	3	3716.5	77.58
	4	3777.9	77.35
	5	3864.0	79.10
<b>Promedio</b>		<b>3787.0</b>	<b>78.22</b>
<b>Control Negativo</b>	1	2353.1	63.86
	2	2495.2	62.30
	3	3111.5	63.99
	4	2644.3	65.23
	5	3008.1	64.54
<b>Promedio</b>		<b>2777.0</b>	<b>63.98</b>
<b>1</b>	1	3434.3	75.50
	2	3613.9	77.38
	3	3743.1	77.83
	4	3506.3	77.49
	5	3697.1	76.85
<b>Promedio</b>		<b>3598.9</b>	<b>77.01</b>
<b>2</b>	1	3705.3	74.34
	2	4278.4	75.54
	3	4207.0	74.31
	4	4398.5	75.85
	5	4290.0	75.23
<b>Promedio</b>		<b>4165.2</b>	<b>75.05</b>
<b>3</b>	1	4571.7	77.98
	2	4104.2	76.81
	3	3452.0	73.74
	4	3903.4	73.98
	5	3842.1	74.78
<b>Promedio</b>		<b>3974.7</b>	<b>75.46</b>
<b>4</b>	1	3347.2	69.50
	2	3826.5	73.94
	3	4328.3	74.30
	4	3392.8	73.78
	5	3631.7	73.18
<b>Promedio</b>		<b>3705.1</b>	<b>72.94</b>

**ANEXO X: Diámetro de diáfisis (mm) y Volumen (cm<sup>3</sup>) de la tibia derecha a los 28 días**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>REPETICION</b>	<b>DIAMETRO (mm)</b>	<b>VOLUMEN (cm<sup>3</sup>)</b>
<b>Control Positivo</b>	1	6.900	4.875
	2	6.744	4.750
	3	6.556	4.500
	4	6.619	4.625
	5	6.706	4.625
<b>Promedio</b>		<b>6.705</b>	<b>4.675</b>
<b>Control Negativo</b>	1	5.756	2.188
	2	6.594	2.167
	3	6.869	2.750
	4	6.056	2.438
	5	6.331	3.000
<b>Promedio</b>		<b>6.321</b>	<b>2.508</b>
<b>1</b>	1	6.681	4.125
	2	6.444	4.500
	3	6.950	4.625
	4	6.338	4.500
	5	6.756	4.375
<b>Promedio</b>		<b>6.634</b>	<b>4.425</b>
<b>2</b>	1	6.396	2.750
	2	6.694	3.125
	3	6.556	2.875
	4	7.094	3.333
	5	6.994	3.750
<b>Promedio</b>		<b>6.729</b>	<b>3.167</b>
<b>3</b>	1	7.063	3.875
	2	6.844	3.875
	3	6.619	3.500
	4	6.531	3.125
	5	6.694	4.125
<b>Promedio</b>		<b>6.750</b>	<b>3.700</b>
<b>4</b>	1	6.481	2.875
	2	6.569	4.125
	3	6.819	3.375
	4	5.944	3.000
	5	6.456	3.750
<b>Promedio</b>		<b>6.454</b>	<b>3.425</b>

**ANEXO XI: Índice de forma (mm) y Densidad (mg/cm<sup>3</sup>) de la tibia derecha a los 28 días**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>REPETICION</b>	<b>INDICE DE FORMA (mm)</b>	<b>DENSIDAD (mg/cm<sup>3</sup>)</b>
<b>Control Positivo</b>	1	11.433	785.53
	2	11.707	794.21
	3	11.853	832.37
	4	11.700	821.42
	5	11.817	839.55
<b>Promedio</b>		<b>11.702</b>	<b>814.62</b>
<b>Control Negativo</b>	1	11.087	1072.53
	2	9.850	1184.47
	3	9.503	1131.41
	4	10.812	1089.01
	5	10.369	1053.90
<b>Promedio</b>		<b>10.324</b>	<b>1106.34</b>
<b>1</b>	1	11.313	823.03
	2	12.035	811.13
	3	11.224	812.19
	4	12.305	776.53
	5	11.440	847.61
<b>Promedio</b>		<b>11.664</b>	<b>815.90</b>
<b>2</b>	1	11.791	1385.29
	2	11.296	1367.50
	3	11.339	1465.28
	4	10.959	1311.26
	5	10.816	1152.21
<b>Promedio</b>		<b>11.240</b>	<b>1336.31</b>
<b>3</b>	1	11.088	1212.93
	2	11.288	1063.39
	3	11.217	993.59
	4	11.336	1255.49
	5	11.340	934.18
<b>Promedio</b>		<b>11.254</b>	<b>1091.91</b>
<b>4</b>	1	10.740	1202.31
	2	11.276	927.29
	3	10.908	1301.07
	4	12.458	1130.61
	5	11.338	991.31
<b>Promedio</b>		<b>11.344</b>	<b>1110.52</b>

**ANEXO XII: Índice de Seedor (mg/mm) e Índice de Quetelet (mg/mm<sup>2</sup>) de la tibia derecha a los 28 días**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>REPETICION</b>	<b>I. SEEDOR (mg/mm)</b>	<b>I. QUETELET (mg/mm<sup>2</sup>)</b>
<b>Control Positivo</b>	1	48.490	0.615
	2	47.960	0.613
	3	47.912	0.618
	4	48.832	0.632
	5	48.798	0.617
<b>Promedio</b>		<b>48.398</b>	<b>0.619</b>
<b>Control Negativo</b>	1	36.158	0.562
	2	40.461	0.652
	3	48.777	0.768
	4	40.587	0.624
	5	46.881	0.732
<b>Promedio</b>		<b>42.573</b>	<b>0.668</b>
<b>1</b>	1	45.432	0.601
	2	46.709	0.604
	3	48.045	0.617
	4	44.976	0.578
	5	48.080	0.626
<b>Promedio</b>		<b>46.648</b>	<b>0.605</b>
<b>2</b>	1	49.823	0.670
	2	56.206	0.740
	3	56.526	0.760
	4	56.681	0.748
	5	56.934	0.756
<b>Promedio</b>		<b>55.234</b>	<b>0.735</b>
<b>3</b>	1	58.582	0.751
	2	53.454	0.696
	3	46.806	0.635
	4	52.699	0.712
	5	51.411	0.688
<b>Promedio</b>		<b>52.590</b>	<b>0.697</b>
<b>4</b>	1	48.133	0.692
	2	51.733	0.700
	3	58.308	0.787
	4	45.913	0.622
	5	49.622	0.679
<b>Promedio</b>		<b>50.742</b>	<b>0.696</b>

**ANEXO XIII: Índice de Robusticidad ( $\text{mm/g}^{1/3}$ ) de la tibia derecha  
a los 28 días**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>REPETICION</b>	<b>I. DE ROBUSTICIDAD (<math>\text{mm/g}^{1/3}</math>)</b>
<b>Control Positivo</b>	1	5.046
	2	5.040
	3	5.009
	4	4.969
	5	5.043
<b>Promedio</b>		<b>5.021</b>
<b>Control Negativo</b>	1	4.845
	2	4.659
	3	4.429
	4	4.728
	5	4.493
<b>Promedio</b>		<b>4.631</b>
<b>1</b>	1	5.012
	2	5.046
	3	5.015
	4	5.123
	5	4.974
<b>Promedio</b>		<b>5.034</b>
<b>2</b>	1	4.808
	2	4.694
	3	4.611
	4	4.666
	5	4.640
<b>Promedio</b>		<b>4.684</b>
<b>3</b>	1	4.701
	2	4.802
	3	4.900
	4	4.710
	5	4.789
<b>Promedio</b>		<b>4.780</b>
<b>4</b>	1	4.656
	2	4.729
	3	4.561
	4	4.927
	5	4.761
<b>Promedio</b>		<b>4.727</b>