



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

Tesis de grado previa a la obtención del  
Título de “Médico Veterinario  
Zootecnista”

**“Efecto de la superdosis de fitasa sobre productividad, oxígeno sanguíneo,  
enzimas hepáticas y deposición de cenizas óseas en pollos de engorde”**

**AUTORES:** Mónica Michelle Jaramillo Ordoñez. C.I. 0104452313  
Mateo Xavier Rodríguez Bravo. C.I. 0104645130

**DIRECTOR:** Dr. Diego Fernando Rodríguez Saldaña Mg. C.I. 0103839308

**CUENCA-ECUADOR**

**06/03/2019**



## I. RESUMEN

El estudio se desarrolló en Cuenca, Azuay, Ecuador; en la zona de San Joaquín, el objetivo fue evaluar el efecto de la superdosis de fitasa bacteriana sobre los parámetros productivos, oxígeno sanguíneo, producción de enzimas hepáticas, deposición de cenizas en tibias de pollos de engorde a 2600 m.s.n.m.; se aplicaron 4 tratamientos en 900 pollos machos Cobb 500 de un día de edad, con un total de 9 repeticiones por tratamiento, siendo cada uno: T1) control Positivo, T2) control negativo, T3) fitasa a dosis normal (500 OTU/Kg de alimento) y T4) superdosis de fitasa (1000 OTU/Kg de alimento, de los cuales 500 OTU con matriz nutricional + 500 OTU *on top*). Se evaluaron costos y parámetros productivos (peso corporal, consumo de alimento semanal y acumulado, índice de conversión, mortalidad y rendimiento de canal). A los 21 y 42 días se tomó aleatoriamente un pollo de cada unidad experimental para extraer una muestra de sangre venosa y evaluar parámetros de gasometría, hematocrito, hemoglobina, ALT, AST y FA; además, estas aves fueron sacrificadas para extraer sus tibias y medir los niveles de calcio, fósforo y cenizas óseas. El uso de superdosis (T4) no mostró mayores diferencias significativas más que las esperadas con respecto al control negativo (T2); por tanto, la ganancia de peso, consumo e índice de conversión fueron los peores en T2, no hubo diferencias significativas respecto a mortalidad, costos ni rendimiento de canal ( $p>0,05$ ), T4 tuvo influencia positiva en el parámetro  $PO_2$  de gasometría a los 21 días, en donde mejoró la afinidad de la hemoglobina con el oxígeno siendo T3 y T4 (16.44mmHg y 17.25mmHg), sucediendo lo mismo con los valores de ALT (2.38 UI y 4.36 UI), AST (195.6 UI y 233.1 UI) a los 21 días ( $p<0,05$ ), y sin significancia en FA, denotando una mejoría en el estado hepático a dicha edad. La retención de Ca y P en tibias resultó disminuida a los 21 días para T4 (23.11% y 9.99%), asumiendo una mayor biodisponibilidad por efecto de T4 para dichos minerales, y sin diferencias ( $p<0,05$ ) a los 42. En conclusión, la inclusión de fitasas con y sin superdosis, contribuye a un mejor desarrollo hepático y le brindan al ave una mejor alternativa para la adaptación a la altura a edades tempranas.

**Palabras clave:** FITASAS, SUPERDOSIS, MIOINOSITOL, GASOMETRÍA, ALT, AST, CENIZAS ÓSEAS.



## II. ABSTRACT

This study was carried out in Cuenca, Azuay, Ecuador; at an experimental shed located in San Joaquin, the objective was to evaluate the effect of bacterial phytase superdose over productive parameters, blood oxygen, production of liver enzymes and deposition of ashes in broilers at 2600m of altitude. 4 treatments were applied in 900 Cobb 500 male chicks one day old, with a total of 9 repetitions per treatment, each one being: T1) Positive control, T2) negative control, T3) phytase at normal dose (500 OTU / Kg) and T4) phytase superdose (1000 OTU / Kg, of which 500 OTU with nutritional matrix + 500 OTU on top). Productive parameters and costs were evaluated such as body weight, weekly and accumulated feed consumption, conversion rate, mortality and carcass yield. At 21 and 42 days one chicken was randomly taken from each experimental unit to extract a venous blood sample and evaluate blood oxygen levels, hematocrit, hemoglobin, ALT, AST and alkaline phosphatase; In addition, these birds were sacrificed to extract their tibias and measure the levels of calcium, phosphorus and bone ash. The use of superdose (T4) showed no significant differences more than expected with respect to the negative control (T2), therefore, the weight gain, consumption and feed conversion ratio were the worst in T2, there was no major significance with respect to mortality, costs and carcass yield ( $p > 0,05$ ), T4 had a positive influence on the  $PO_2$  at 21 days, where the affinity of hemoglobin with oxygen was improved, with T3 and T4 (16.44mmHg and 17.25mmHg). The same happened with the values of ALT (2.38 IU and 4.36 IU), AST (195.6 IU and 233.1 IU) at 21 days ( $p < 0,05$ ), and without significance in ALP, indicating an improvement in the liver functionality at that age. The retention of Ca and P in tibias was diminished at 21 days for T4 (23.11% and 9.99%), assuming a greater bioavailability due to the effect of T4 on these minerals, and without differences ( $p < 0,05$ ) at 42. Concluding that, the inclusion of doses and super doses of phytase contribute to a better liver development and provide the bird with a better alternative for adapting to altitude at an early age.

**Key words:** PHYTASES, SUPERDOSES, MYOINOSITOL, BLOOD GASES, ALT, AST, BONE ASH.

### III. TABLA DE CONTENIDO

I. RESUMEN .....	1
II. ABSTRACT .....	2
III. TABLA DE CONTENIDO.....	3
IV. ÍNDICE DE TABLAS .....	5
V. ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
VI. ÍNDICE DE ANEXOS.....	7
VII. CLÁUSULA DE AUTORIA.....	8
VIII. CERTIFICACIÓN DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	9
IX. AGRADECIMIENTO.....	12
X. DEDICATORIA .....	14
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA. ....	16
1. INTRODUCCIÓN .....	17
2. OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo general.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. HIPÓTESIS .....	19
4. REVISIÓN DE LITERATURA .....	20
4.1 Reseña histórica de sobre el uso de enzimas .....	20
4.2 Bases conceptuales de las enzimas.....	21
4.3 Clasificación general de las enzimas exógenas .....	21
4.4 Mecanismos de acción de las enzimas .....	24
4.5 Consideraciones previas a la utilización de enzimas exógenas .....	25
4.6 Factores importantes a tener en cuenta para la utilización estratégica de enzimas exógenas.....	26
4.7 Ventajas de la utilización de enzimas exógenas en aves .....	27
4.8 Fitasas y su aplicación en la avicultura.....	28
4.9 Características del Mioinositol .....	29



4.10 Beneficios de la utilización de fitasas en avicultura .....	30
4.11 Concepto de superdosis de fitasa.....	31
4.12 Beneficios del uso de superdosis de fitasas .....	33
4.13 Factores críticos para el éxito de superdosis de fitasa .....	34
4.14 Fisiopatología de las aves .....	35
4.15 Bioquímica sanguínea .....	37
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>41</b>
5.1 El área de estudio.....	41
5.2 Metodología para la Investigación experimental.....	41
5.3 Datos tomados y Métodos de Evaluación.....	44
5.4 Diseño experimental .....	47
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
6.1 Peso corporal.....	49
6.2 Consumo de alimento semanal y acumulado. ....	50
6.3 Índice de conversión comercial y corregido por mortalidad. ....	51
6.4 Mortalidad semanal y acumulada; mortalidad por ascitis semanal y acumulada. ....	53
6.5 Hemograma y Gasometría sanguínea.....	54
6.6 Enzimas hepáticas del suero.....	58
6.7 Cenizas, calcio y fósforo en tibias.....	60
6.8 Rendimiento a la canal. ....	63
6.9 Costos de producción. ....	63
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>67</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>76</b>



#### IV. ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1.</b> Clasificación general de las enzimas exógenas disponibles en el mercado, sustratos objetivos, funciones y beneficios generales.....	23
<b>Tabla N° 2</b> Recomendaciones Nutricionales de pollos de engorde Cobb 500.....	43
<b>Tabla N° 3.</b> Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales.....	44
<b>Tabla N° 4.</b> Interpretación de resultados de la relación del peso del VD/PC .....	46
<b>Tabla N° 5.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre el peso corporal (Kg). ....	50
<b>Tabla N° 6.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre consumo de alimento semanal y consumo de alimento acumulado. ....	52
<b>Tabla N° 7.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre índice de conversión comercial acumulado (ICc) e índice de conversión corregido por mortalidad acumulado (ICm).....	53
<b>Tabla N° 8.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre la mortalidad semanal, mortalidad acumulada, mortalidad semanal por ascitis y mortalidad acumulada por ascitis. ....	56
<b>Tabla N° 9.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre gasometría variables sanguíneas evaluadas al día 21 de edad.....	57
<b>Tabla N° 10.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre gasometría y variables sanguíneas evaluadas al día 42 de edad.....	57
<b>Tabla N° 11.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre las enzimas hepáticas evaluadas al día 21 de edad. ....	59
<b>Tabla N° 12.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre las enzimas hepáticas evaluadas al día 42 de edad. ....	60
<b>Tabla N° 13.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre porcentaje de cenizas Ca y P evaluadas al día 21 de edad.....	61
<b>Tabla N° 14.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre porcentaje de cenizas Ca y P evaluadas al día 42 de edad.....	61
<b>Tabla N° 15.</b> Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre peso al sacrificio, rendimiento a la canal y grasa abdominal evaluadas al día 42 de edad.....	62
<b>Tabla N° 16.</b> Costo de alimento y de producción de pollo vivo al final del experimento	64



## V. ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1.</b> Degradación del fitato a Inositol y fósforo paso a paso por acción de la fitasa. ....	32
<b>Figura N° 2.</b> Ubicación satelital del galpón experimental, parroquia San Joaquín. ....	41



## VI. ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo N° 1.</b> Matriz nutricional de la enzima utilizada en el experimento (500 y 1000 OTU/Kg de alimento) .....	76
<b>Anexo N° 2.</b> Análisis NIR de fósforo fítico contenido en el maíz utilizado en las dietas experimentales.....	77
<b>Anexo N° 3.</b> Análisis NIR de fósforo fítico contenido en la soya utilizada en las dietas experimentales.....	78
<b>Anexo N° 4.</b> Protocolo de pesaje semanal, registros y balanza utilizado en el mismo.	79
<b>Anexo N° 5.</b> Pesaje de comederos y registros de consumo utilizados en el proyecto.	80
<b>Anexo N° 6.</b> Registro utilizado para contabilizar la mortalidad diaria y el peso individual requerido para las correcciones pertinentes. ....	81
<b>Anexo N° 7.</b> Registro de necropsia utilizado en toda la mortalidad del proyecto, balanza y pesaje de órganos bajo el protocolo de necropsia. ....	81
<b>Anexo N° 8.</b> Ejemplo de resultados correspondientes a gasometría y hemograma.....	82
<b>Anexo N° 9.</b> Ejemplo de resultados correspondientes a enzimas hepáticas en el suero sanguíneo. ....	84
<b>Anexo N° 10.</b> Protocolo de sacrificio, extracción de tibias y pesaje de órganos para la obtención de rendimiento a la canal.....	85
<b>Anexo N° 11.</b> Ejemplo de resultados correspondientes a contenido de cenizas, Ca y P en tibias.....	86
<b>Anexo N° 12.</b> Confirmación de homogeneidad y normalidad de la varianza de todos los datos mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk (ejemplo en variable peso vivo). ....	87



## VII. CLÁUSULA LEGAL DE AUTORIA

### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Mónica Michelle Jaramillo Ordoñez en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de la superdosis de fitasa sobre productividad, oxígeno sanguíneo, enzimas hepáticas y deposición de cenizas óseas en pollos de engorde", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 06 de Marzo del 2018

Michelle Jaramillo

Mónica Michelle Jaramillo Ordoñez

C.I: 0104452313



## VIII. CERTIFICACIÓN DE PROPIEDAD INTELECTUAL

### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Mónica Michelle Jaramillo Ordoñez, autor/a del trabajo de titulación "Efecto de la superdosis de fitasa sobre productividad, oxígeno sanguíneo, enzimas hepáticas y deposición de cenizas óseas en pollos de engorde", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 06 de Marzo del 2018

Michelle Jaramillo

Mónica Michelle Jaramillo Ordoñez

C.I: 0104452313



## CLÁUSULA LEGAL DE AUTORIA

### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Mateo Xavier Rodríguez Bravo en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de la superdosis de fitasa sobre productividad, oxígeno sanguíneo, enzimas hepáticas y deposición de cenizas óseas en pollos de engorde", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 06 de Marzo del 2018

Mateo Xavier Rodríguez Bravo

C.I: 0104645130



## CERTIFICACIÓN DE PROPIEDAD INTELECTUAL

### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Mateo Xavier Rodríguez Bravo, autor/a del trabajo de titulación "Efecto de la superdosis de fitasa sobre productividad, oxígeno sanguíneo, enzimas hepáticas y deposición de cenizas óseas en pollos de engorde", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 06 de Marzo del 2018



Mateo Xavier Rodríguez Bravo

C.I: 0104645130



## IX. AGRADECIMIENTO

*Agradezco a mis padres, Mónica y Jaime, por siempre haber confiado en mí y haberme apoyado en cada decisión y reto que me he propuesto; a mis hermanos Daniel y María José por ayudarme en cualquier situación presente y ser un apoyo incondicional a lo largo de mi vida; agradezco también a todos los profesores y compañeros que conocí y aprendí de ellos a lo largo de mi carrera, los cuales hoy en día puedo considerarlos más que colegas, mis amigos.*

*Sin el apoyo de mi familia y amigos este logro no hubiera sido posible, gracias a todos.*

*Michelle Jaramillo O.*



*A mis padres Lorena y Guido por el incondicional apoyo durante todo mi periodo académico; A mi mentor, mi mejor amigo, mi hermano y futuro colega Diego, gracias a su paciencia, dedicación y motivación al enseñarme todo lo necesario. A todas las personas que conforman AviGran por hacer el proyecto realizable.*

*Finalmente, pero no menos importante, a mis profesores que durante toda la carrera con su, “granito de arena”, cada uno me ha formado como el profesional que espero ser, y a todos mis amigos que aportaron incluso con el mínimo detalle para permitirme lograr este gran objetivo.*

*Eternamente agradecido.*

*Mateo Rodríguez B.*



## X. DEDICATORIA

*A mi abuelo, Jaime, quien desde el día en que comencé la Universidad ha esperado con anhelo y orgullo verme cumplir el reto más importante hasta el momento de mi vida, también dedico este gran esfuerzo a mi querida Sisi, por el cariño y confianza que me ha dado desde niña hasta el día de hoy ha sido uno de los motivos más importantes para llegar a ser una buena profesional y seguir mejorando en el futuro.*

*Con mucho cariño, Michelle.*



*Para mi mamá, que me enseñó a tener amor por todo lo que hago, para mi papá, un gran profesional, persona y empresario, como el cual quiero llegar a ser. Para mis hermanos Lorena y Diego, gracias a los cuales siempre busco mi superación y éxito, y por ellos, es que encuentro el mejor camino para llegar a él. Para Sofía y Emilio, en quienes veo enfocado el futuro de lo que más quiero, y por lo que quiero contribuir con la sociedad como el mejor profesional.*

*Para mis amigos, colegas y profesionales relativos al tema, para que sigamos mejorando la academia e investigación, misma que llevará a nuestra sociedad a un futuro prometedor.*

*Mateo Rodríguez B.*



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.

**FAN:** Factor Antinutricional.

**AF:** Ácido Fítico.

**OTUs:** Unidad taxonómica operativa de la fitasa.

**FTUs:** Unidades de fitasa necesarias para liberar 1 $\mu$ mol de fósforo inorgánico.

**NAD / FAD:** Nicotinamida Adenina Dinucleótido / Flavín Adenín Dinucleótido.

**VD/PC:** Relación Ventrículo derecho/Peso del corazón.

**NPP:** Fósforo No Fítico.

**HCT / HB:** Hematocrito / Hemoglobina

**IC:** Índice de conversión.

**ALT:** Alanina aminotransferasa.

**AST:** Aspartato aminotransferasa.

**ALP- FA:** Alkaline phosphatase - Fosfatasa Alcalina.

**LDH:** Lactato Deshidrogenas.

**Ca:** Calcio.

**P:** Fósforo.

**PO<sub>2</sub>:** Presión parcial de Oxígeno.

**SO<sub>2</sub>:** Saturación de Oxígeno.

**PCO<sub>2</sub>:** Presión parcial de dióxido de carbono.

**TCO<sub>2</sub>:** Oxígeno disuelto en plasma y químicamente enlazado a hemoglobina.

**IP6 – IP1:** Inositol Hexafosfato, Pentafofosfato, Tetrafofosfato, hasta Monofosfato.

**GLUt4:** Proteína transportadora de glucosa tipo 4 regulada por la insulina.

**SA:** Síndrome Ascítico.

**SHP:** Síndrome de Hipertensión Pulmonar.

**SNC/SNP:** Sistema Nervioso Centra / Sistema Nervioso Periférico.



## 1. INTRODUCCIÓN

El rendimiento productivo en avicultura depende principalmente de la digestibilidad de los nutrientes del alimento ingerido, entre los principales componentes nutricionales de la dieta de los animales, se encuentra la materia prima de origen vegetal (Dos Santos, Srinongkote, Bedford y Walk, 2013), la cual está condicionada por agentes naturales que forman compuestos complejos conocidos como factores anti-nutricionales (FAN) (Sanmiguel, 2011). Los FAN son sustancias no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas como un mecanismo de defensa frente a agentes externos (Casso y Montero, 1995).

El (AF) es la principal forma de almacenamiento del fósforo en las plantas, conocido también como fitato o fitina y bioquímicamente como mioinositol hexafosfato o IP6 (Cooper y Hausman, 2007; Reddy y *col.*, 1982; Selle y Ravindran, 2007). El fitato es uno de los FAN más investigados en el sector de producción avícola debido a que las aves no pueden utilizar el fósforo ligado al fitato ya que carecen de una enzima necesaria (fitasa) para digerir este compuesto (Selle y Ravindran, 2007). La fitasa se define como una enzima capaz de liberar fosfato y residuos minerales del fitato, es considerada esencial para el proceso digestivo de las aves (Cooper y Hausman, 2007). Esta enzima cataliza la reducción del fosfato de AF o IP6 a ésteres menores de inositol fosfato como el IP5 hasta IP1, llegando al producto final y principal, el fósforo inorgánico (Lei y Porres, 2003; Selle y Ravindran, 2007).

La reducción de inositolpenta y hexafosfato (IP6-IP5) también ejerce efectos sistémicos beneficiosos en las aves, dicha reducción de IP6-IP5 disminuye la disociación de O<sub>2</sub> con la HB, lo que se verá reflejado en una menor efecto de hipoxia en las aves, esto a su vez tiene como resultado una menor incidencia de SHP o síndrome ascítico, esta enfermedad metabólica se asocia con alteraciones en la integridad hepática, sin embargo existe escasa información que describa el uso de fitasas como influyente sobre la cantidad de enzimas AST, ALT, LDH y FA (Sanmiguel, 2011).



La utilización de fitasas en la dieta de los animales también resulta en un mayor depósito óseo de fósforo, esto es beneficioso económicamente debido que los requerimientos de este mineral representan el tercer componente más costoso en la dieta, después de la energía y proteína; entonces, con una mayor absorción de fósforo al organismo la inclusión de fósforo inorgánico a la dieta disminuye (Casso y Montero, 1995). La utilización de fitasas también ha incrementado debido a la preocupación relacionada con la contaminación ambiental con fósforo (Nahm, 2007 y Shimada, 2015), puesto que la mayor absorción de fósforo resulta en una menor excreción del mismo en las heces de los animales, por ende el porcentaje de contaminación ambiental disminuye (Dos Santos y col., 2013).

La superdosis de la fitasa se basa en el principio de aplicar igual o más de 1000 FTU/Kg u OTUS/Kg en una dieta, en la cual se puede tener un valor nulo o parcial en la matriz nutricional de la enzima (Cowieson, Bedford, York y Wyatt, 2013). Comúnmente el uso de las enzimas se lo realiza *on top*, es decir, 750 OTUs/Kg con matriz nutricional de la enzima más 750 OTUs/Kg sobre lo anterior, garantizando de este modo una mayor reducción del fitato (Dos Santos y Bedford, 2012). El uso de dosis altas de fitasas tiene como resultado concentraciones menores de AF (IP5-IP6) por lo tanto, un mejor aprovechamiento del fósforo por parte del animal, sugiriendo que ante la mayor afinidad entre  $O_2$  y HB existirá una menor incidencia del SHP (Olkowski, Korver, Rathgeber y Classen, 1999; Scheele, De Wit, Frankenhuis y Vereijken, 1991; Yang y col., 2016), y también una mayor concentración de fósforo a nivel de huesos es relativa a una menor excreción de fósforo al ambiente (Cowieson y col., 2013; Cowieson, Wilcock, y Bedford, 2011).

De este modo la presente investigación buscó evaluar el comportamiento productivo del pollo de engorda, sus niveles de oxígeno sanguíneo, cenizas óseas e integridad hepática utilizando dos niveles de inclusión de fitasas, junto con la aplicación de un control positivo y uno negativo.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de dos niveles de inclusión de fitasa bacteriana (con y sin superdosis) sobre los parámetros productivos, oxígeno sanguíneo, producción de enzimas hepáticas, deposición de calcio y fósforo en tibias de pollos de engorde machos a 2600 msnm.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar diferencias entre tratamientos sobre parámetros productivos (consumo de alimento, peso corporal, conversión alimenticia, ganancia diaria de peso y mortalidad general), hematocrito, niveles de oxígeno en sangre venosa, niveles de calcio, fósforo y cenizas depositadas en tibias.
- Evaluar el efecto de la superdosis de fitasa bacteriana sobre la incidencia de síndrome ascítico y la producción de enzimas hepáticas.
- Analizar el efecto de la aplicación de superdosis de fitasa bacteriana sobre los costos de producción.

## 3. HIPÓTESIS

**Ha:** La utilización de superdosis de fitasa bacteriana aumenta la deposición de fósforo, calcio y cenizas a nivel óseo, optimiza la integridad hepática e incrementa los niveles de oxígeno en sangre, mejorando la productividad en pollos de engorde.



## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Reseña histórica de sobre el uso de enzimas

En 1835 la primera teoría general sobre la catálisis química publicada por J.J. Berzelius incluía un ejemplo de lo que hoy se conoce como una enzima: la diastasa de la malta, señalando que la hidrólisis del almidón se catalizaba más eficazmente por ésta que por el ácido sulfúrico (Zyla, Grabacka, Pierzchalska, Dulinski y Starzynska-Janiszewska, 2013). A partir del descubrimiento de Luis Pasteur en 1860, sobre el proceso de fermentación que se lleva a cabo en la fabricación de quesos, vino y cerveza, se pudo esclarecer el funcionamiento de las enzimas, el cual mencionaba que los fermentos estaban íntimamente ligados con la estructura vital de las células de la levadura. En 1876, Willian Kuhneles propuso el nombre de enzima, término que deriva de las palabras griegas *en* (en) y *zyme* (levadura) (Acosta y Cárdenas, 2006). En 1897, Eduard Buchner probó que las enzimas podían extraerse de las células de las levaduras y usarse por sí mismas, y en 1893 Oswald descubre la acción catalítica de las enzimas, un año después Takamine inicia el descubrimiento sistemático de enzimas técnicas a partir de un moho, estas enzimas eran capaces de escindir carbohidratos y proteínas (Méndez Rojas, 2011).

James Summer en 1926 logró demostrar con la ureasa que las enzimas son proteínas, después de la II Guerra mundial se forman enzimas importantes a partir de la fermentación con aplicación en la producción de antibióticos y amilasas micóticas o bacterianas (Méndez Rojas, 2011). En 1982, la compañía finlandesa Cultor comienza a desarrollar enzimas alimenticias para la nutrición animal y pone en el Mercado finlandés el primer producto enzimático (Acosta y Cárdenas, 2006). Los países pioneros fueron los Escandinavos, Gran Bretaña, Canadá y, de forma muy particular, España, siendo la avicultura el primer sector alimentario beneficiado (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl y Fru-Nji, 2014). Comenzando a comercializarse la primera enzima específica para aves en 1986 (Acosta y Cárdenas, 2006), la inclusión de enzimas en nutrición animal no tiene más de 20 años dentro de la industria agropecuaria (Méndez Rojas, 2011).



## 4.2 Bases conceptuales de las enzimas

Las enzimas son bio-moléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas que tienen lugar en la célula, y son capaces de aumentar la velocidad de las reacciones químicas mucho más que cualquier catalizador artificial conocido, cada una de ellas induce la transformación de un sólo tipo de sustancia y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción (Trudy Mckee, 2013). La conformación tridimensional de la proteína enzimática es indispensable para que esta se desempeñe eficazmente, la enzima se une a uno o más sustratos específicos mediante un centro activo (Sanmiguel, 2011), forman un complejo “enzima-sustrato” que debilita algunos de los enlaces químicos del sustrato (Trudy Mckee, 2013).

El uso de enzimas exógenas en las dietas de animales monogástricos como cerdos y aves ha sido estudiado y aplicado para mejorar su alimentación, favoreciendo la hidrólisis de compuestos de baja digestibilidad (Méndez Rojas, 2011). La adición de un complejo enzimático a dietas con ingredientes de menor costo o valor nutricional inferior apuntan a un mejor uso de nutrientes de la dieta para mejorar la productividad (Ahmad, Rasool, Sarwar, Haq y Hasan, 2000). Las enzimas causan en el animal en primer lugar, una mejor conversión de las sustancias minerales como por ejemplo, la utilización de fitasas, enzima producida por fermentación a partir de una cepa modificada de *Aspergillus niger*, la cual actúa sobre los fitatos presentes en los ingredientes vegetales, liberando los nutrientes que se encuentran unidos al complejo, las enzimas producen una mejor conversión alimenticia y menor una excreción de nutrientes al medio ambiente (Medina, 2003).

## 4.3 Clasificación general de las enzimas exógenas

Anteriormente, las enzimas se denominaban de acuerdo a su descubridor, sin embargo, al no proporcionar indicios sobre su función, este tipo de nomenclatura fue sustituida por la adición de un sufijo al nombre del sustrato (ureasa catalizadora de urea) (Trudy Mckee, 2013). A continuación, se indican las seis grandes clases de enzimas existentes en la actualidad:



**Oxidoreductasas:** catalizan reacciones de oxidorreducción o redox, precisan la colaboración de las coenzimas de oxidorreducción ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{FAD}$ ) que aceptan o ceden los electrones correspondientes (Medina, 2003). Tras la acción catalítica, estas coenzimas cambian el estado de oxidación de uno o de más átomos en una molécula. Ejemplos: deshidrogenasa, peroxidasa (Medina, 2003).

**Transferasas:** las transferasas transfieren grupos moleculares de una molécula donadora a una receptora. Entre tales grupos están el amino, el carboxilo, el carbonilo, el metilo, el fosforilo y el acilo. Ejemplos: transcarboxilasas y transmetilasas (Vilches Perales y Otavio Sorbara, 2014).

**Hidrolasas:** catalizan reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros (Medina, 2003). Actúan en la digestión de los alimentos, previamente a otras fases de su degradación. Ejemplos: glucosidasas, lipasas (Boling y *col.*, 2000; Trudy Mckee, 2013).

**Liasas:** catalizan reacciones en las que se eliminan grupos  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$  para formar un doble enlace o añadirse a un doble enlace. Ejemplos: descarboxilasas, liasas (Trudy Mckee, 2013; Young, 1977).

**Isomerasas:** actúan sobre determinadas moléculas obteniendo o cambiando de ellas sus isómeros funcionales o de posición, es decir, catalizan varios tipos de reordenamiento molecular obteniendo formas isoméricas. Suelen actuar en procesos de interconversión. Ejemplos: epimerasas, mutasas (Trudy Mckee, 2013; Young, 1977).

**Ligasas:** catalizan la degradación o síntesis de los enlaces denominados "fuertes" mediante el acoplamiento a moléculas de alto valor energético como el ATP. Ejemplos: sintetasa, carboxilasa (Trudy Mckee, 2013; Young, 1977).

Actualmente existe una gran cantidad de enzimas exógenas destinadas a la adición de alimentos como se muestra en la Tabla N°1, y estas se presentan en diferentes productos comerciales, se han clasificado en cuatro categorías: fitasas microbianas, glucanasas que se dirigen a cereales viscosos (por ejemplo, trigo, cebada), enzimas



que se dirigen a cereales no viscosos (por ejemplo, maíz , sorgo) y enzimas que se dirigen a los no cereales (por ejemplo harina de soya, leguminosas de grano (Young, 1977). La aplicación puede ser individual en conjunto con otras enzimas, la aplicación combinada de enzimas puede dar como resultado efectos aditivos, sub-aditivos o sinérgicos sobre la utilización de nutrientes y el rendimiento animal (Cowieson, Hruby y Pierson, 2006).

**Tabla N° 1.** Clasificación general de las enzimas exógenas disponibles en el mercado, sustratos objetivos, funciones y beneficios generales.

Enzima	Sustrato	Materia prima	Función	Beneficio
Fitasas	Ésteres de ácido fítico	Origen vegetal	Hidrólisis de fitato	Mejora la absorción de fósforo y otros minerales
$\beta$ -glucanasas: $\beta$ (1-4) glucanasa	B-glucanos	Cebada, avena, centeno	Reducción de viscosidad de la dieta	Mejora la digestibilidad de las dietas
Xilanasas	Arabinoxilanos	Trigo, centeno, triticale, cebada		
$\alpha$ -Galactosidasa	Oligosacáridos	Soya, leguminosas		
Mananasa	Manano-oligosacáridos (Pared celular)	Origen vegetal		
Celulasas	Celulosa, Hemicelulosa (Pared celular)			
Hemicelulasa	Hemicelulosa (Pared celular)			
Pectinasa	Pectinas (Pared celular)			
Proteasas	Proteínas	Proteicos vegetales	Hidrólisis de proteína	Aumento de la digestibilidad de la proteína
Fitasas	Ésteres de ácido fítico	Origen vegetal	Hidrólisis de fitato	Mejora la absorción de fósforo y otros minerales
Lipasa	Grasas, ésteres	Lípidos de ingredientes	Hidrólisis de grasas	Suplemento para edades juveniles

**Fuente:** Cowieson, 2006.



#### 4.4 Mecanismos de acción de las enzimas

De acuerdo al tipo de sustrato que atacan, existen cuatro tipos de enzimas que dominan el mercado de nutrición animal: enzimas para degradar AF, fibra, proteína y almidón (Khattak, Pasha, Hayat y Mahmud, 2006).

Degradación de fibra : una de las limitantes de los monogástricos (cerdos y aves) se encuentra en que no producen enzimas que les permiten degradar la fibra que se encuentra en los alimentos de origen vegetal, estos ingredientes presentan fibra soluble e insoluble, esta última es causante de aumentar la viscosidad del contenido intestinal limitando la absorción de nutrientes y como consecuencia disminuye el crecimiento del animal (Cowieson y *col.*, 2006), también se ha relacionado con desórdenes digestivos como colitis en cerdos y pérdida de calidad por lesiones en pechuga y corvejones de aves de corral. Enzimas como xilanasa y  $\beta$ -glucanasa pueden disminuir la variabilidad de los ingredientes nutricionales, ya que su contenido de fibra puede variar en relación al lugar de crecimiento y condiciones climáticas entre otras características, su uso tiene un impacto directo sobre las poblaciones microbianas del intestino (Cowieson y *col.*, 2006; Khattak y *col.*, 2006).

Degradación de proteínas: varios ingredientes de origen vegetal proporcionan los aminoácidos necesarios en las dietas de los monogástricos (Glitsoe, Ruckebusch y Knap, 2015), ingredientes como la soya contienen (FAN) tales como inhibidores de lecitina y tripsina (Cowieson y *col.*, 2006); los FAN están asociados a daños en la superficie de absorción de nutrientes a nivel del intestino, la adición de proteasa puede neutralizar o eliminar los efectos de los FAN y ayudar a degradar las moléculas grandes de proteínas a fracciones absorbibles (Cowieson y *col.*, 2006; Khattak y *col.*, 2006).

Degradación de almidón: el maíz ha sido uno de los ingredientes principales en la dieta de los animales por muchos años, ya que se ha posicionado como un alimento que presenta hasta un 95% de digestibilidad, pero actualmente este ingrediente raramente excede el 85% de digestibilidad (Medina, 2003). La adición de amilasa a las dietas



permite exponer al almidón más rápido hacia la absorción en el intestino delgado, de esta manera el crecimiento de los animales se acelera, la utilización de amilasa en las dietas también se ve relacionada con el incremento de enzimas endógenas, la digestión y absorción aumentan y los índices de producción mejoran (Cowieson y *col.*, 2006; Khattak y *col.*, 2006).

Degradación de ácido fítico: el fósforo se requiere para la mineralización de los huesos, inmunidad, fertilidad y crecimiento; sin embargo, tanto aves como cerdos tienen la capacidad de absorber sólo un 30-40% de fósforo proveniente de ingredientes de origen vegetal, el resto del fósforo se encuentra inaccesible para los animales desde un punto de vista nutricional, en muchas ocasiones es necesario la adición de fósforo a las dietas, volviéndolas más costosas, y eliminando grandes cantidades de fósforo al ambiente, al agregar fitasa a la dieta, el AF es degradado, liberando más fósforo al organismo del animal (Khattak y *col.*, 2006).

#### **4.5 Consideraciones previas a la utilización de enzimas exógenas**

Las enzimas empleadas en los alimentos para animales deben ser: activas y efectivas en el animal, estables durante el almacenaje, compatibles con minerales, vitaminas y otros ingredientes de la dieta (Trudy Mckee, 2013; Young, 1977). Las enzimas deben ser capaces de tolerar la fabricación del alimento como el aumento de temperatura en la peletizadora o la presión de vapor de agua en el acondicionador, la adición de enzimas incapaces para soportar temperaturas elevadas ocasiona la degradación de la misma con pérdidas irreversibles de su actividad, además deben tener suficiente fluidez para asegurar el mezclado uniforme en el alimento (Sanmiguel, 2011). El pH tiene un efecto muy importante en la actividad enzimática, el pH óptimo difiere entre enzimas, para la aplicación de alimentos suele estar entre 3,5-7,5. El porcentaje óptimo de constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ )<sup>1</sup> es de 50% o menos (Glitsoe y *col.*, 2015).

---

<sup>1</sup> Constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ) representa el grado de concentración de enzima-sustrato, a mayor elevación, mayor disociación.



#### **4.6 Factores importantes a tener en cuenta para la utilización estratégica de enzimas exógenas**

Se mencionan cuatro bases para un uso estratégico de enzimas:

##### **a) Disponibilidad de sustrato**

El hecho que exista una suficiente cantidad de sustrato va a permitir que la utilización de una enzima exógena sea justificada económicamente, ya que los ingredientes usados en animales no son “puros”; sin embargo, todas las materias primas contienen sustrato para una gran variedad de enzimas digestivas por ejemplo, cereales como el maíz y trigo contienen carbohidratos, proteínas y lípidos, pero no en las mismas proporciones (Dale, 2006).

##### **b) Capacidad de utilización de los residuos de la hidrólisis enzimática**

La pasta de soya es el mejor ejemplo; al comparar la energía bruta del maíz y de la pasta de soya, resulta que esta última tiene un mayor valor energético bruto, sin embargo, la digestión de sus carbohidratos es sumamente baja, los cuales podrían ser degradados por enzimas, pero sus residuos serán igualmente indigestibles que el sustrato inicial (Dale, 2006).

##### **c) Requerimiento de los residuos de la hidrólisis enzimática**

Normalmente, el animal si requiere de éstos residuos, pero una excepción sería disponer de harina de carne de buena calidad y precio con una inclusión del 5 – 6%, el requerimiento de fósforo puede llenarse sin la utilización de fitasa (Cowieson, Masey-O’Neill y Bedford, 2013; Dale, 2006).

##### **d) Costo-beneficio**

Generalmente, el objetivo de una enzima es reducir el costo final de la dieta y al mismo tiempo reducir el costo del producto terminado, por ejemplo, si el costo de la pasta de soya es bajo, es posible que la utilización de proteasa incremente el costo final de la



dieta en lugar de abaratarla; sin embargo, existen beneficios secundarios por la utilización de proteasas, tales como la reducción de enteritis necrótica gracias a que a intestino llegan una menor cantidad de proteínas sin digerir (Cowieson y *col.*, 2013).

#### **4.7 Ventajas de la utilización de enzimas exógenas en aves**

De acuerdo a diferentes autores Glitsoe y *col.*, (2015); Ravindran, (2013) y Ruiz, (2011) la aplicación de enzimas en alimentos para animales tiene los siguientes objetivos:

- a) Remover o destruir factores anti-nutritivos en raciones para monogástricos.
- b) Mejorar la digestibilidad total de la dieta, puesto que la baja digestibilidad de algunas materias primas es el resultado de la falta de enzimas endógenas del animal.
- c) Aumentar la digestibilidad de polisacáridos no amiláceos, considerando que, los monogástricos carecen de la capacidad endógena para hidrolizar los carbohidratos de este tipo por lo que cuando se adicionan las enzimas necesarias los componentes monosacáridos producto de su hidrólisis, se pueden absorber y utilizar.
- d) Complementar la adición de las enzimas endógenas producidas por el animal, especialmente en cerdos y aves jóvenes cuando el sistema enzimático aún no se desarrolla completamente, hay deficiencia de algunas enzimas.
- e) Liberar algunos de los nutrientes atrapados, como azúcares simples y lisina.
- f) Reducir el impacto contaminante de las heces de los animales en el ambiente.
- g) Modificar la microbiota intestinal, favoreciendo a especies benéficas, lo que optimiza la salud e integridad intestinal y optimiza la morfología del intestino y su integridad, resultando en una mejor digestión y absorción de nutrientes.
- h) Incrementar la uniformidad de parvada al saque debido a la mejora en el crecimiento de aves retrasadas y al optimizar la calidad de la cama y bienestar animal, gracias a la reducción de la humedad de las heces; minimizando problemas de patas, pechugas y corvejones quemados.

El uso de las enzimas exógenas en el alimento de los animales aumenta la utilización de todos los constituyentes del alimento y hace posible el uso de ingredientes de menor



calidad, esto se traduce en costos menores de alimentos y utilidades más altas (Barletta, 2010; Glitsoe y col., 2015).

#### **4.8 Fitasas y su aplicación en la avicultura**

En nutrición animal los requerimientos de calcio (Ca) y fósforo (P) son considerablemente conocidos por las inclusiones dietarias de piedra caliza y suplementos de fósforo inorgánico como fosfato di-cálcico (Cooper y Hausman, 2007). El fósforo es el tercer integrante más costoso en la dieta de monogástricos, posterior a la energía y proteína (Cowieson y col., 2013; Méndez Rojas, 2011). Conjuntamente, es un mineral crítico, ya que del total de elementos minerales en el organismo, Ca y P representan el 70% y son esenciales para la formación de huesos, la transferencia de energía a las células, la regulación del pH en la sangre, el control del apetito, la ganancia de peso y la conversión alimentaria (Ravindran, 2013; Reddy, Sathe y Salunkhe, 1982).

Teniendo en cuenta que en los recursos de origen vegetal se presentan cantidades considerables de P pero la mayoría de ellos están ligados con fitatos (mioinositol hexafosfato) (Selle y Ravindran, 2007). Además, que la afinidad del fitato es grande para otros cationes bivalentes, incluyendo zinc y cobre, y que dichas moléculas se consideran agentes antinutricionales debido a que forman complejos (quelatos) con minerales e incluso pueden reaccionar con proteínas, reduciendo su disponibilidad; esto convierte a dichos recursos en sustancias no absorbibles que se excretan en las heces, por lo que deben suplementarse en grandes cantidades en la dieta (Bye, Cowieson, Cowieson, Selle y Falconer, 2013; Reddy y col., 1982).

En los últimos años se ha incentivado la investigación sobre la adición de fitasas (mioinositol hexafosfatos fosfohidrolasas) en la dieta de monogástricos para mejorar tanto el desempeño productivo a partir del incremento en la disponibilidad de los minerales (Selle y Ravindran, 2007), las proteínas y otros nutrientes, como los efectos que podrían mejorar potencialmente la digestibilidad de los aminoácidos (Selle, Moss, Truong y Yun, 2015). En la actualidad las fitasas exógenas son usadas en las dietas para hidrolizar el fósforo fítico, y volverlo disponible; la fitasa exógena también puede



mejorar la disponibilidad de Ca, Na y aminoácidos, disminuyendo los niveles de inclusión de fósforo inorgánico en la dieta (Cowieson. y col., 2013; Rosen y col., 2010; Walk y col., 2013).

La actividad fitásica en materia gastrointestinal puede ser detectada y cuantificada por el método de espectrofotometría, la actividad fitásica fue definida por Engelen, van der Heeft, Randsdorp y Smit, (1994). Continuando con la teoría, mediante la técnica de liberación de ortofosfato Dos Santos y Bedford, (2012), definió al OTUS/kg de alimento, en donde 1 OTU es la actividad enzimática que libera 1  $\mu\text{mol}$  de P inorgánico de fitato sódico 0,0051/mol a un pH de 5,5 y una temperatura de 37° C. Usando esta técnica Shin, Nam, Byung, Kwang y Ha, (2001), identificaron el mecanismo catalítico y las propiedades que permiten que queden dos iones fosfato y cuatro iones calcio en una fitasa microbiana calcio dependiente (Engelen y col., 1994).

A pesar de toda investigación, se encuentra insuficiente información con respecto al efecto de la actividad fitásica sobre el perfil hepático y pancreático en avicultura (Sanmiguel, 2011); no obstante, Brenes y col., (2003), hallaron que la actividad enzimática de AST, ALT, LDH y FA es influenciada por la actividad de las fitasas, las cuales causarían mayor concentración de inositol y el perfil hepático se vería mejorado (Sanmiguel, 2011).

#### **4.9 Características del Mioinositol**

El mioinositol es considerado uno de los componentes estructurales esenciales de los fosfoinosítidos celulares, los cuales están involucrados en funciones celulares, tales como sensibilidad a la insulina y lípidos, metabolismo, supervivencia, estructura y crecimiento celular (Walk, Bedford y Olukosi, 2018). Los fosfoinosítidos (inositol fosfato) libres son transportados a través de tres sistemas de co-transporte; dos sistemas son dependientes del sodio y otro de protones (Greiner, Alminger y Carlsson, 2001).

La ubicación y expresión de estos sistemas de co-transporte en los diversos tejidos puede indicar la importancia del mioinositol sobre el metabolismo celular y su función (Neira y col., 2013). Estudios realizados por Walk y col., (2018), en conejos y ratones, concluyen que aquellos inositoles co-transportados a través del sodio se expresan más



en el cerebro y corteza medular, mientras que los dependientes de protones se expresan en cerebro e intestino. La ubicación de los mismos es relevante para entender de mejor manera el funcionamiento y ventajas que brinda el mioinositol al metabolismo celular de los animales (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, y Fru-Nji, 2014).

El mioinositol ejerce acción en el transporte de la glucosa, gluconeogénesis y deposición de proteína en mamíferos, tiene propiedades y funciones metabólicas similares a la insulina, estimulando la translocación del GLUT4 (el transportador primario de glucosa sensible a la insulina en los mamíferos) a la membrana plasmática (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, y Fru-Nji, 2014).

#### **4.10 Beneficios de la utilización de fitasas en avicultura**

La utilización de enzimas se ha dado desde principios de 1990 como una herramienta importante para reducir el impacto medioambiental de la ganadería industrial y mejorar la rentabilidad en las aves (Byte y *col.*, 2013; Reddy y *col.*, 1982). Además de la ventaja relacionada al costo y beneficio en sostenibilidad, la hidrólisis de fitatos también ofrece varios efectos fisiológicos adicionales a la liberación de fósforo en los animales (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, y Fru-Nji, 2014).

El principal beneficiario del uso de fitasas en la dieta, corresponde al aumento de la absorción de minerales aparte del fósforo y su biodisponibilidad; como se ha mencionado anteriormente, la fitasa permite un aumento considerable de la capacidad del organismo para absorber y asimilar minerales como el calcio, magnesio y hierro (Cowieson y *col.*, 2013; Rosen y *col.*, 2010). El AF al ser FAN, proporciona efectos negativos en el organismo de las aves, creando complejos insolubles con los minerales, en este sentido la fitasa al transformar el AF en componentes fosfóricos de menores moléculas, disminuye la carga del mismo en el organismo de las aves (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl y Fru-Nji, 2014; Liu y *col.*, 2009).

La fitasa obtenida del hongo *Aspergillus* tiene una amplia variedad de pH con al menos un 80% de la actividad máxima con los valores del pH y resultados óptimos para la hidrólisis de fitato (Walk y *col.*, 2013), además de aumentar la biodisponibilidad mineral



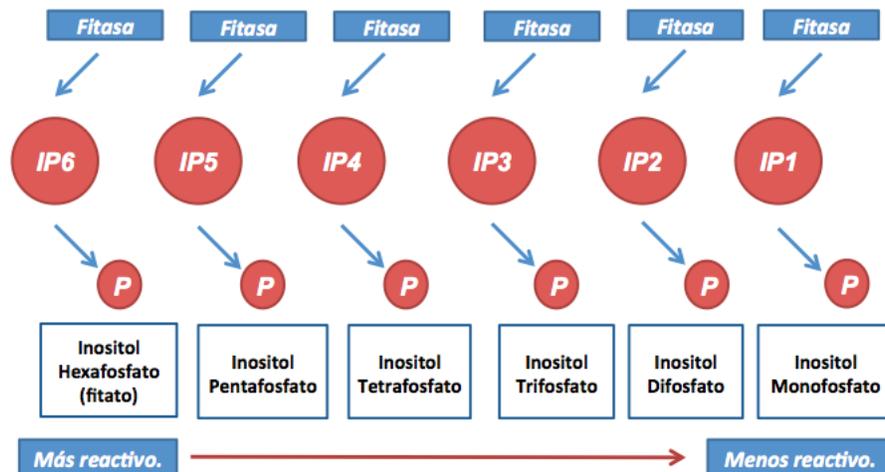
del alimento, tiene amplios beneficios para la digestión del mismo, ya que al descomponer el AF, el proceso digestivo se vuelve más eficiente y existe una mejor absorción de otros nutrientes (Barletta, 2010; Glitsoe y col., 2015).

Los efectos extra-fosfóricos de las fitasas podrían extenderse desde la mejora de la digestibilidad de los aminoácidos y los minerales, hasta una mejora sustancial de los niveles de mioinositol plasmáticos (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl y Fru-Nji, 2014; Neira y col., 2013). El mioinositol se compara con la insulina, se podría decir que el aumento de mioinositol disminuye la respuesta a la insulina en el organismo de las aves, este mecanismo podría explicar por qué la adición de fitasas, especialmente en altas concentraciones de inclusión, tiene efectos positivos en la ganancia de peso y en el índice de conversión, que van más allá de la suma de efectos de la digestibilidad de nutrientes (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, y Fru-Nji, 2014).

El uso de fitasas también se ha visto relacionado a un mejor y más eficiente aprovechamiento de la energía que obtienen las aves a partir de su alimentación, según Pirgozliev y col., (2012) se explica por una mejora en el rendimiento a la canal y menor cantidad de grasa abdominal, siendo este uno de los resultados que más se espera en avicultura ya que va de la mano con una disminución de los costos de producción (Pirgozliev y Bedford, 2012).

#### **4.11 Concepto de superdosis de fitasa**

La superdosis de la fitasa se basa en el principio de aplicar tres a cuatro veces más la dosis estándar, iniciando por 1000 FTU/Kg u OTUS/Kg en una dieta, en la cual se puede tener un valor nulo o parcial en la matriz nutricional de la enzima (Cowieson, Bedford, York y Wyatt, 2013). Comúnmente el uso de las enzimas se lo realiza *on top*, es decir, 750 OTUs/Kg con matriz nutricional de la enzima más 750 OTUs/Kg sobre lo anterior, garantizando de este modo una mayor reducción del fitato (Figura N°1); (Dos Santos y Bedford, 2012).



**Figura N° 1.** Degradación del fitato a Inositol y fósforo paso a paso por acción de la fitasa.

**Fuente:** Bedford, (2016)

En los mamíferos, además del  $\text{CO}_2$ , el bifosfoglicerato (BGP) es la molécula reguladora del suministro adecuado del oxígeno ( $\text{O}_2$ ) en las células, favoreciendo la disociación de la hemoglobina con el  $\text{O}_2$ , mediante la reducción de la afinidad y liberación de este gas a los tejidos del organismo; en otras palabras, el BGP reduce la afinidad del  $\text{O}_2$  con la hemoglobina. Mientras que, en aves y reptiles, el trabajo del BGP es realizado por los ésteres inositol pentafosfato (IP5) e inositol hexafosfato (IP6) (Cooper y Hausman, 2007).

El uso de dosis altas de fitasa tiene como resultado concentraciones menores de AF (IP5-IP6) por lo tanto, un mejor aprovechamiento del fósforo por parte del animal, y a su vez sugiere gracias a la presencia de inositol una mayor afinidad de la hemoglobina con el  $\text{O}_2$  y en consecuencia, una posible menor incidencia de síndrome ascítico en altitudes elevadas (Cooper y Hausman, 2007; Cowieson, Wilcock y Bedford, 2011).

Por otra parte, la aplicación de superdosis de fitasa en dietas para pollos de engorde tiene un efecto positivo sobre el desempeño productivo y en la digestibilidad de algunos nutrientes debido a la reducción del AF y sus ésteres a nivel del tracto gastrointestinal y a un incremento en la energía neta (Manobhavan y col., 2016; Pirgozliev y Bedford, 2012; Shimada, 2015).



Aun así, a pesar que la solubilidad de los ésteres IP3 a IP5 sea mayor, aún mantienen el efecto anti-nutricional similar al original AF o IP6, pues pueden interactuar negativamente con otros nutrientes afectando su disponibilidad y digestibilidad, por lo cual, con mayores dosis de fitasas basados en el principio de enzima sustrato se esperaría una mayor reducción de dichos ésteres (Cowieson y *col.*, 2011; Yu, Cowieson, Gilbert, Plumstead y Dalsgaard, 2012).

#### **4.12 Beneficios del uso de superdosis de fitasas**

De acuerdo Cowieson y *col.*, (2011), y Da Silva Catalan y Krabbe, (2016), los efectos benéficos de la superdosis de fitasa se puede explicar mediante varios mecanismos de acción:

- Mayor liberación de fósforo y calcio (liberación proporcional)
- Mejoramiento de la integridad y funcionamiento hepático pancreático y óseo.
- El fitato residual (ésteres menores al IP6) es menor, y se generan más esterres menores que tienen mayor solubilidad.
- Disminución de excreción de fósforo como contaminante al medio ambiente.
- Generación de mioinositol con efectos vitamínicos y lipotrópicos (efecto promotor de crecimiento)

Finalmente, la aplicación práctica de superdosis de fitasa puede tener dos vías según Cowieson y *col.*, 2013; Da Silva Catalan y Krabbe, 2016:

- Uso de dosis crecientes de fitasa, aplicando una matriz nutricional específica para cada dosificación, de esta forma el impacto sobre costo final de dieta es compensado con la mayor liberación de nutrientes.
- Aplicación de superdosis de fitasa, aplicando una matriz nutricional para una parte de la enzima agregada, con ello se espera tener un efecto promotor de crecimiento extra, pero con un impacto en el costo de dieta que será dependiente de la cantidad de fitasa *on top* (sin considerar los nutrientes que la enzima podría liberar) que se agregue al alimento.



#### 4.13 Factores críticos para el éxito de superdosis de fitasa

El fitato tiende a enlazarse con minerales y proteínas cargados positivamente, de este modo los vuelve menos disponibles, a más de esto el fitato también reduce la activación de otras enzimas digestivas tales como la pepsina, volviendo a la proteína de la dieta menos digestible y causando mayor liberación de ácido clorhídrico en estómago y proventrículo, todo esto genera una mayor pérdida por los efectos irritantes producidos (Bedford, 2016). Posterior a esto existe evidencia que relaciona al fitato con una menor absorción de aminoácidos, zinc, calcio y cobre, por lo antes mencionado la aplicación de fitasas tiene un efecto benéfico sobre dichos inconvenientes, siempre y cuando se disocie la mayor cantidad de IP6 (Yu y col., 2012).

Por todos los efectos anti-nutricionales, se muestra la necesidad de degradar el fitato por debajo del IP3, lo cual se puede conseguir mediante la superdosis, la cual permite mayor liberación de mioinositol, el mismo que permanece después de que el P ha sido disociado del fitato por acción de las fitasas (Cowieson, Aureli y Guggenbuhl, 2015). El mioinositol es considerado un constituyente esencial de fosfo-inositidos celulares y está involucrado en muchas funciones celulares, como sensibilidad a la insulina y lípidos, metabolismo, supervivencia celular, estructura y crecimiento (Cowieson y col., 2013). Estudios recientes confirman el importante rol del inositol en respuesta a la superdosis de fitasa (Manobhavan y col., 2016; Sanmiguel, 2011), siendo su principal objetivo alcanzar la degradación del fitato a inositol a niveles cercanos al 100% lo cual ha resultado una tarea muy complicada para la biotecnología de la nutrición en los últimos años (Silversides, Scott y Bedford, 2004), todo esto debido a que las fitasas presentan sensibilidades considerables a variaciones de acidez y temperatura, lo cual disminuye en gran porcentaje su funcionalidad puesto a que deben pasar por procesos térmicos durante la fabricación del alimento, y medios ácidos cambiantes a nivel de digestivo (Selle y Ravindran, 2007).



#### **4.14 Fisiopatología de las aves**

En la actualidad, el estudio fisiopatológico de las aves ha tomado mayor énfasis, principalmente por parte de los productores avícolas para poder mejorar el rendimiento productivo de las mismas y evitar enfermedades de alto impacto productivo y económico como el SHP (Andrade, 2000). El pollo de engorda es considerado una especie de alta producción cárnica, cuyo aprovechamiento ha causado mayor impacto en el campo de la producción de alimentos de origen animal, pero su continuo desarrollo genético lo ha catalogado como un ave de producción altamente susceptible a desarrollar problemas metabólicos como el SHP o SA. (Andrade, 2000; Hevia, 2004).

##### ***Termorregulación***

Las aves son vertebrados de sangre caliente y durante su evolución se originaron de los reptiles, los reptiles son poiquiloterms (Hevia, 2004), o de sangre fría, lo que significa que no son capaces de regular su temperatura corporal y por lo general corresponde a la del ambiente; las aves son homeotermas, de sangre caliente, su temperatura corporal profunda es en forma relativa muy alta y por lo general casi constante (Hevia, 2004; Johnson, 2000). También son endotermos, es decir, tienen la habilidad de generar calor corporal en forma interna para aumentar su temperatura corporal (Hevia, 2004). La temperatura de las gallinas oscila entre 40,6 y 41,9 ° C (Quishpe Sandoval, 2006).

Entre las principales causas de SHP o SA en aves se encuentra la exposición de las mismas a temperaturas bajas, debido al rápido desarrollo de hipoxia (Johnson, 2000; San Primitivo, 2007); la presentación de este problema se acentúa en épocas frías, por otro lado, la hiperventilación, una de las respuestas más rápidas de las aves a causa de temperaturas elevadas también es un causante importante de SA, debido a que la respiración del ave es insuficiente para distribuir el O<sub>2</sub> a todo el organismo, como consecuencia se desarrolla hipoxia hasta llegar al conocido SA. (Hevia, 2004).



### **Sistema circulatorio**

Las aves presentan el mismo sistema circulatorio que los mamíferos, sin embargo, los pollos de engorde han sufrido consecuencias graves en el mismo, debido al mejoramiento genético, lo cual ha hecho de ellas aves muy susceptibles a alteraciones en el sistema circulatorio; como se mencionó anteriormente, el resultado de ascitis se debe al desarrollo de un cuadro de hipoxia, que tiene como resultado un aumento de gasto cardiaco, lo cual aumenta la presión de la arteria pulmonar y como consecuencia ocurre una insuficiencia cardiaca derecha, aumentando así las presiones venosas y capilares (presión oncótica), causando extravasación de líquidos del sistema vascular (Carlos, 1991; Johnson, 2000). En aves situadas a nivel del mar, el aumento de tasa de crecimiento exige un mayor consumo de  $O_2$ , lo que estimula el gasto cardiaco y se obtendría la misma respuesta que generan las aves situadas en altitudes elevadas (Johnson, 2000).

El aumento crónico en el gasto cardíaco de los pollos causa hipertensión pulmonar y ascitis, porque la capacidad vascular de los pulmones no ha aumentado en proporción a las demandas metabólicas del resto del cuerpo (Andrade, 2000; Johnson, 2000). El volumen capilar pulmonar de las aves en general es significativamente menor que el predicho para un ave de tamaño comparable, probablemente porque las aves, contrario a los pollos de engorde, se han criado sin mayores intervenciones en genéticas durante miles de años (San Primitivo, 2007).

### **Sistema nervioso**

El sistema nervioso de las aves es similar al de los mamíferos, sin embargo es necesario recalcar que las aves destinadas a producción han sufrido diferentes cambios con el pasar de los años debido a su mejoramiento genético (Johnson, 2000). El sistema nervioso autónomo (SNA) está conformado por el sistema nervioso parasimpático y simpático, presentándose como un conjunto de nervios que controlan el músculo estriado y liso de diferentes órganos (Angúlo Asensino, 2009). El SNA se encuentra encargado de varias funciones vitales como regulación cardiovascular, la



respiración, la osmo-regulación, la termorregulación, fotoperiodismo y la regulación de la ingesta de alimentos (Liu y *col.*, 2009).

La ingesta de alimento y su entendimiento es de suma importancia dentro de la producción avícola, debido a que el consumo de alimento representa la primera instancia para el buen rendimiento productivo de aves de producción cárnica (Johnson, 2000; Quishpe Sandoval, 2006). Se propuso que el hipotálamo ventro-medial, denominado centro de "saciedad", contenga un conjunto de neuronas que proyectan e inhiben un área de hipotálamo lateral, el centro de "alimentación" (Johnson, 2000; San Primitivo, 2007). Los núcleos hipotalámicos mediales anteriores dieron como resultado un aumento en la ingesta de alimentos en pollos de engorde (Andrade, 2000; Johnson, 2000). Finalmente, el aumento de consumo y otras características correspondientes a la mejora productiva del ave logradas mediante mejoramiento genético han causado inestabilidad entre SNC y SNP lo cual ha generado predisposición por parte de los pollos a diferentes enfermedades, siendo enfáticas las metabólicas como el SA o SHP debido al desequilibrio antes mencionado.(Johnson, 2000) Por lo que es fundamental en futuras generaciones recuperar ese equilibrio en el sistema nervioso.

#### **4.15 Bioquímica sanguínea**

##### ***Gasometría***

El transporte gaseoso que ocurre en la sangre de las aves y su importancia en producción avícola se encuentra dirigido especialmente al O<sub>2</sub> y la HB (Powell, 2015), misma que presenta una afinidad para asociarse al O<sub>2</sub> y así transportarlo a todo el organismo (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl y Fru-Nji, 2014). Existen varios factores que pueden alterar este proceso y causar alteraciones metabólicas a las aves, entre los más importantes se encuentran los niveles de fosfato orgánico (Neira y *col.*, 2013), El mioinositol (IP) es el fosfato orgánico primario que afecta la afinidad de la HB con el O<sub>2</sub> en aves (Johnson, 2000), el efecto de la unión de IP con hemoglobina dentro de los eritrocitos es considerable, siendo negativa esta afinidad cuando se encuentran niveles bajos de IP en el organismo (Johnson, 2000; San Primitivo, 2007).



El aumento del pH causa un incremento de la afinidad de HB con el O<sub>2</sub> y viceversa, conocido como efecto Bohr (Liu y col., 2009); la ventaja fisiológica del efecto es facilitar la carga de O<sub>2</sub> en los pulmones, donde el CO<sub>2</sub> es bajo y el pH es alto; en los músculos, ocurre lo contrario y la disminución del pH facilita la descarga de O<sub>2</sub> a los tejidos (Angúlo Asensino, 2009; Cowieson, Aureli, Guggenbuhl y Fru-Nji, 2014). La temperatura también muestra ser un factor influyente, debido a que la combinación de O<sub>2</sub> con HB es una reacción química que libera calor, el aumento de la temperatura reduce la afinidad de la hemoglobina por O<sub>2</sub> (Angúlo Asensino, 2009; Johnson, 2000).

### **Enzimas hepáticas**

Las manifestaciones clínicas de enfermedades hepáticas en aves muchas veces no son apreciadas, transcurriendo de forma subclínica y cuando se evidencian puede ser tardía la acción veterinaria (Soto y Asoc, 2010). Una enfermedad hepática puede tener un origen primario o secundario, siendo de origen primario o contagioso aquellas causadas por bacterias o virus, como por ejemplo: E. coli, Chlamydomphila, Salmonella (Soto y Asoc, 2010). Las enfermedades secundarias se relacionan con la forma de alimentación de las aves, como exceso de grasa en dietas o sobre-suplementación de vitamina A, la exposición a toxinas como aflatoxina por hongos o intoxicación por Zinc o cobre también son causantes principales de enfermedad hepática (Bintvihok y Kositcharoenkul, 2006).

Enfermedades sistémicas como fallas en el corazón reducen la velocidad del tránsito sanguíneo, esto crea a su vez una congestión en los órganos, en especial el hígado (Soto y Asoc, 2010). La lesión hepática provoca extravasación de fluido (aumento de presión oncótica) y su acúmulo en la cavidad abdominal, y como consecuencia el desarrollo de SA en el organismo (Currie, 1999). Esta enfermedad metabólica se asocia con alteraciones en la integridad hepática, las enzimas séricas responsables de demostrar el correcto funcionamiento e integridad del hígado son la AST, ALT, LDH y FA (Sanmiguel, 2011).

Existe escasa información que relaciona el uso de fitasas como influyente sobre la cantidad de enzimas AST, ALT, LDH y FA (Sanmiguel, 2011). Estudios recientes



mencionan que la aplicación de enzimas a la dieta de los animales tuvo como respuesta un mejor funcionamiento hepático, disminuyendo las concentraciones y actividad de FA, ALT y AST (Viveros, Brenes, Arija y Centeno, 2002). Debido a la gran incógnita detrás de las fitasas y sus beneficios sobre funcionalidad hepática, es de interés actual en la avicultura para obtener respuestas más específicas sobre esta relación (Casso y Montero, 1995).

### **Cenizas óseas**

La densidad mineral ósea es uno de los factores más importantes para determinar la calidad de los huesos (Aguilar, Otto y Vílchez, 2018). La medición de dicha densidad determina un parámetro de alta especificidad para el ámbito experimental, y se ha utilizado en la producción avícola como una herramienta para realizar estudios que evalúen la calidad ósea de las aves. (Almeida Paz y Bruno, 2006). El fósforo es un mineral importante en el organismo de los animales, este mineral es responsable de la formación y mantenimiento de los huesos, especialmente durante el crecimiento y desarrollo esquelético de los pollos (Aguilar y *col.*, 2018). La rigidez del tejido óseo resulta de la deposición de calcio y fósforo durante el proceso de mineralización; estos minerales constituyen aproximadamente el 70% de la composición del hueso, el 30% restante está compuesto de materia orgánica, principalmente de colágeno (Almeida Paz y Bruno, 2006).

El desarrollo óseo está estrechamente relacionado con dos factores principales: la expresión genética de las proteínas responsables del desarrollo, y el suministro nutricional que reciben las aves en sus dietas (Almeida Paz y Bruno, 2006). La absorción del fósforo se encuentra limitada por encontrarse en la dieta de las aves en forma de fitato, pero se conoce que su biodisponibilidad puede ser incrementada mediante el empleo de enzimas denominadas fitasas como se ha mencionado anteriormente (Aguilar y *col.*, 2018).

La importancia nutricional del efecto de las fitasas radica en la mayor cantidad de fósforo liberado del enlace fítico, eliminando de este modo el efecto antinutricional correspondiente al AF (Sebastian, Touchburn, Chavez y Lague, 1996). El mercado actual ofrece diversos tipos de fitasa microbiana, sin embargo, la eficiencia de las

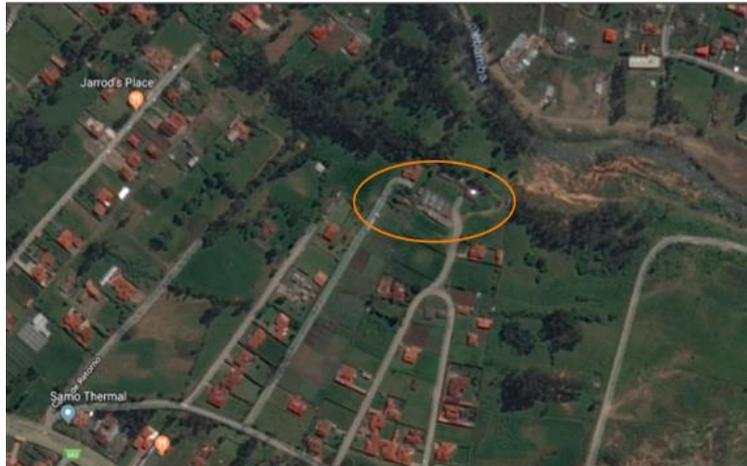


mismas sobre la disponibilidad de minerales indican la necesidad de más investigaciones bajo condiciones controladas que analicen principalmente el desarrollo óseo, buscando demostrar, la efectividad de estas enzimas al momento de mejorar la biodisponibilidad del Ca y P (Aguilar y *col.*, 2018); (Sebastian y *col.*, 1996).



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 El área de estudio



**Figura N° 2.** Ubicación satelital del galpón experimental, parroquia San Joaquín.

**Fuente:** Directorio cartográfico de Google Maps, 2018.

El proyecto se ejecutó en la parroquia de San Joaquín (Figura N° 2), cuyas coordenadas son: Latitud sur: 2°53.10.0"S y Longitud Oeste 79°03'32.1"O. Las condiciones meteorológicas donde se llevó a cabo el proyecto son las siguientes: altitud de 2556 m.s.n.m.; pluviosidad anual entre 500 mm y 2000 mm, humedad relativa del 62% y temperaturas que oscilan entre 5 y 15 ° C.

### 5.2 Metodología para la Investigación experimental

#### *Factores en estudio*

Los factores en estudio corresponden a las dosis de fitasa que se observan en los tratamientos junto con la aplicación de un control positivo y uno negativo para mayor especificidad de resultados.

#### *Tratamientos*

**Tratamiento 1 (Control Positivo).** Alimento formulado con los requerimientos completos de calcio, fósforo y energía sin la adición de fitasa.



**Tratamiento 2 (Control Negativo).** Alimento con un menor aporte de calcio, fósforo y energía, dicho aporte reducido corresponde a la cantidad teórica que liberaría la fitasa aplicada a dosis de 500 OTUS/Kg de alimento.

**Tratamiento 3 (Fitasa dosis normal).** Alimento con dosis normal de fitasa y formulado considerando la matriz nutricional de la enzima (Anexo N°1) para 500 OTUS/Kg de alimento. (200gr/TM de Optiphos®)

**Tratamiento 4 (Superdosis).** Alimento con superdosis de fitasa (1000 OTU/Kg de alimento), de los cuales 500 OTUS/Kg de alimento con matriz nutricional + 500 FTU/Kg de alimento adicionados *on top*<sup>2</sup>. (400gr/TM de Optiphos®)

#### *Unidades experimentales*

- Unidad experimental: Jaula con 25 pollos
- Número de unidades experimentales: 36
- Unidades experimentales por tratamiento (Repeticiones): 9
- Número de individuos por unidad experimental: 25 pollitos machos
- Número de individuos por tratamiento: 225 pollos
- Número total de individuos: 900 pollos machos

#### *Selección y ubicación de animales*

Se utilizaron 900 pollitos de engorde machos de 1 día de edad de la línea Cobb 500 de un mismo lote de reproductoras procedente de una incubadora comercial y con un peso promedio de 42±1,5 g. Las aves fueron alojadas en las jaulas de acuerdo a la distribución de cada tratamiento. El galpón es abierto, sin aislante térmico, con piso de cemento y el material de cama que se utilizó fue cascarilla de arroz. La densidad poblacional correspondió a 12 aves/m<sup>2</sup>; el programa de iluminación fue natural (12 horas de fotoperiodo ± 0,5 horas), el calor se ofreció con un turbo calentador a diésel durante 4 semanas.

---

<sup>2</sup> *On top.* Se adiciona la enzima, sin tener en cuenta su liberación de nutrientes al momento de realizar la formulación de la dieta



### Alimento

Las dietas fueron en presentación migaja y formuladas en base a maíz y pasta de soya, el programa y perfil nutricional se adaptó al de la guía de nutrición de la línea genética Cobb-Vantress (Cobb-Vantress Inc., 2015) en tres fases: iniciación (1-10 días de edad), crecimiento (11-22 días de edad) y finalización (23-42 días) (Tabla N° 2). Cada fase fue muestreada para un análisis de recuperación de enzimas con lo que se garantizó la concentración de las mismas en cada dieta; el acceso al alimento fue *ad libitum*.

Previo a la formulación y fabricación del alimento, se analizó mediante NIR el maíz y soya (Anexos N° 2 y 3) que fueron utilizados, con el propósito de evaluar su composición nutricional general y conocer el aporte de fósforo fítico en la dieta.

**Tabla N° 2** Recomendaciones Nutricionales de pollos de engorde Cobb 500

Ítem	Iniciador	Crecimiento	Finalizador
	1 – 10 d	11 – 22 d	23 – 42 d
Proteína cruda (%)	21 – 22	19 – 20	18 – 19
EMA* (Kcal/kg)	3008	3086	3167
Lisina digestible (%)	1.18	1.05	0.95
Metionina digestible (%)	0.45	0.42	0.39
Metionina + Cistina dig (%)	0.88	0.80	0.74
Treonina digestible (%)	0.77	0.69	0.65
Valina digestible (%)	0.89	0.80	0.73
Triptófano digestible (%)	0.18	0.17	0.17
Fósforo disponible (%)	0.45	0.42	0.38
Calcio (%)	0.90	0.84	0.76
Sodio (%)	0.23	0.20	0.18

\* EMA: Energía Metabolizable Aparente, Aves

**Fuente:** Cobb-Vantress (2015)

### Distribución de los tratamientos en las jaulas

Cada una de las réplicas se distribuyó de manera aleatoria en las jaulas dentro del Galpón Experimental conforme el diseño experimental DBCA (Tabla N° 3).



<b>Bloque. I</b>	UE 1 / T1	UE 10 / T2	UE 19 / T3	UE 28 / T4
<b>Bloque. II</b>	UE 2 / T4	UE 11 / T1	UE 20 / T2	UE 29 / T3
<b>Bloque. III</b>	UE 3 / T3	UE 12 / T4	UE 21 / T1	UE 30 / T2
<b>Bloque. IV</b>	UE 4 / T2	UE 13 / T3	UE 22 / T4	UE 31 / T1
<b>Bloque. V</b>	UE 5 / T4	UE 14 / T3	UE 23 / T2	UE 32 / T1
<b>Bloque. VI</b>	UE 6 / T1	UE 15 / T4	UE 24 / T3	UE 33 / T2
<b>Bloque. VII</b>	UE 7 / T2	UE 16 / T1	UE 25 / T4	UE 34 / T3
<b>Bloque. VIII</b>	UE 8 / T3	UE 17 / T2	UE 26 / T1	UE 35 / T4
<b>Bloque. IX</b>	UE 9 / T2	UE 18 / T4	UE 27 / T3	UE 36 / T1

**Tabla N° 3.** Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales

**Fuente:** Granja San Joaquín AviGran de la empresa BalGran Cía. Ltda.

### 5.3 Datos tomados y Métodos de Evaluación

#### *Peso corporal*

Se registró el peso grupal de las aves por unidad experimental y se obtuvo el promedio del peso/animal de forma semanal, teniendo los pesajes a los 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días. El dato registrado fue en Kilogramos/pollo (Anexo N° 4).

#### *Consumo de alimento semanal y acumulado*

Diariamente se calculó el consumo de alimento en cada unidad experimental, para obtener el promedio de consumo/animal semanal (CAs) y también el acumulado (CAa). Los datos resultantes fueron en Kilogramos/pollo. Para ello, fue necesario registrar el consumo de alimento por ave por día (Anexo N° 5), para lo cual fue necesario pesar el



alimento sobrante y adicionarle la cantidad del alimento servido todos los días; posteriormente los datos de consumo diario fueron totalizados para calcular el consumo semanal y a su vez el consumo acumulado de alimento.

### *Índice de conversión*

Este parámetro debió ser calculado semanalmente y de forma acumulada, el cual se obtiene netamente al dividir el alimento total consumido para el peso final obtenido. El cálculo de esta variable se divide en índice de conversión comercial (ICc) y en índice de conversión corregido por mortalidad (ICm) siguiendo las siguientes fórmulas:

$$ICc = \frac{\text{Consumo acumulado de alimento (Kg)}}{\text{Peso vivo (Kg)}}$$

$$ICm = \frac{\text{Consumo acumulado de alimento (Kg)}}{\text{Peso vivo (Kg) + Peso de mortalidad (Kg)}}$$

### *Mortalidad semanal y acumulada*

Para su cálculo se determinó y registró el número de aves muertas durante el transcurso de la investigación (Anexo N° 6), el mismo fue expresado en porcentaje, y para su cálculo es necesaria la siguiente fórmula:

$$\text{Mortalidad semanal} = \frac{\text{N° de aves muertas en la semana}}{\text{N° de aves iniciales}} \times 100$$

$$\text{Mortalidad acumulada} = \frac{\text{N° de aves muertas acumuladas}}{\text{N° de aves iniciales}} \times 100$$

### *Mortalidad semanal y acumulada por síndrome ascítico*

Para su cálculo se determinó el número de aves muertas por síndrome ascítico durante el transcurso de la investigación, el cual fue expresado en porcentaje.

Es fundamental mencionar que el diagnóstico para ascitis se realizó a partir del día 21 de edad, mediante necropsia, extracción y lavado en solución salina del corazón, luego se calculó la relación del peso del ventrículo derecho para el peso del corazón (Julian, 1993; Olkowski, Korver, Rathgeber y Classen, 1999; Vásquez Vélez, 2011) (VD/PC) (Tabla N° 4). Dicho pesaje y registro se realizó mediante una balanza analítica,



permitiendo un diagnóstico de alta confiabilidad del síndrome ascítico (Anexo N° 7). Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Mortalidad semanal por ascitis} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de aves muertas por ascitis en la semana}}{\text{N}^\circ \text{ de aves iniciales}} \times 100$$

$$\text{Mortalidad acumulada por ascitis} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de aves muertas acumuladas por ascitis}}{\text{N}^\circ \text{ de aves iniciales}} \times 100$$

**Tabla N° 4.** Interpretación de resultados de la relación del peso del VD/PC

Estado	Valor
Normal	< 0,25
Síndrome ascítico	> 0,30
Severamente afectados	> 0,50

**Fuente:** Julian, (1993)

#### *Variables sanguíneas*

Se evaluaron los niveles de O<sub>2</sub> sanguíneo, hematocrito y HB en un equipo de gasometría i-Stat Abbott 300 (Vásquez Vélez, 2011). La extracción de las muestras de sangre se realizó a los 21 y 42 días de edad; para ello, se tomó un pollo por cada repetición (n=9 por tratamiento), verificando que el individuo seleccionado se encuentre dentro del promedio de la unidad experimental. Se tomó una muestra de sangre venosa a través de la vena yugular ubicada en el lado derecho del cuello llenando tres tubos para las pruebas correspondientes a química sanguínea, hemograma y gasometría para la medición de O<sub>2</sub> sanguíneo, siguiendo los siguientes procedimientos: **1) primer tubo:** 2 ml en un tubo morado EDTA minicolector, el cual permitió realizar el hemograma y medir los niveles de O<sub>2</sub> sanguíneo del individuo (Anexo N° 8); **2) segundo tubo:** para este caso fue necesario 2 ml en un tubo rojo sin EDTA, el cual fue útil para realizar el análisis conocido como química sanguínea donde los niveles de ALT, AST y Fosfatasa Alcalina fueron analizados (Anexo N° 9) para determinar el funcionamiento hepático de cada individuo (Sanmiguel, 2011).



### *Medición de cenizas en tibias y rendimiento de canal*

Para este análisis fue necesario sacrificar a las aves por dislocación cervical, luego se desplumaron y se extrajeron sus vísceras con el fin de obtener datos finales de rendimiento a la canal al día 42 (Anexo N° 10), en los días 21 y 42 se extrajeron las tibias las cuales fueron enviadas al laboratorio para la obtención de su contenido en cenizas, calcio y fósforo, (Anexo N° 11) pudiendo de este modo analizar la retención de los mismos (Manobhavan y col., 2016). Además, en los pollos sacrificados se aplicó la relación VD/PC cardiaca, siguiendo el procedimiento especificado anteriormente, con el objeto de obtener mayores datos respectivos al síndrome ascítico (Tabla N° 4).

### *Costos de Producción*

Se realizó un cálculo de costos de producción por kilogramo de pollo vivo para cada unidad experimental, para llevar este valor a un promedio por tratamiento. Se simularon valores de producción reales siguiendo la siguiente fórmula:

$$\text{Costo de Kg de pollo vivo} = \frac{\text{Gastos totales}}{\text{Kg totales producidos}}$$

Los costos fijos considerados para este cálculo correspondieron a: pollitos, arriendo (galpón equipado), calefacción, mano de obra e imprevistos; como costos variables se tomaron en cuenta el alimento total consumido en cada tratamiento. El total del costo de cada tratamiento fue dividido para el total de Kilogramos de pollo vivo producido (Rodríguez Saldaña, 2016).

## **5.4 Diseño experimental**

Diseño de Bloques Completo al Azar (DBA)

Esquema del Análisis estadístico

Los datos fueron procesados en Microsoft Excel y exportados al paquete estadístico *Statistical Package for the Social Science* versión 22 (IBM SPSS v 22.0).



Se aplicó un DBCA, en donde inicialmente se realizó un análisis de homogeneidad y normalidad de varianzas de los datos con las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk respectivamente (Anexo N° 12), posterior a la comprobación de los datos se detectaron las diferencias significativas con la prueba de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Al considerarse varias variables de salida, también se aplicó un ANOVA como prueba multivariante considerando el DBCA que sigue el siguiente modelo para los 4 tratamientos:

$$\begin{aligned}
\hat{Y}_{1gj} &= \mu + a_{1g} + b_{1j} + e_{1gj} \\
\hat{Y}_{2gj} &= \mu + a_{2g} + b_{2j} + e_{2gj} \\
&\vdots \\
\hat{Y}_{k gj} &= \mu + a_{kg} + b_{kj} + e_{k gj}
\end{aligned}$$

Siendo por lo tanto en forma matricial:

$$y_{gj} = \mu + a_g + b_j + e_{gj}$$

En donde:

- $Y_{gj}$  Variable dependiente
- $\mu$  Media poblacional (intercepto)
- $\alpha_g$  Efecto del factor de tratamientos
- $\beta_j$  Efecto del factor de bloqueo
- $\epsilon_{gj}$  Error aleatorio



## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Peso corporal.

Los resultados del peso corporal de las aves se muestran en la Tabla N° 5, en donde se observa que durante el transcurso del experimento el uso de superdosis de fitasa no tuvo un efecto claro y contundente sobre el peso corporal, tal y como se manifiesta durante las semanas 1, 2, 3 y 4 fue mayor significativamente solamente en comparación con el control negativo, ( $p < 0,05$ ) lo cual es un efecto esperado y predecible que se explica debido al contenido disminuido de energía, calcio y fósforo en la dieta del control negativo.

Es claro que no existen diferencias significativas pero si numéricas entre el uso de la dosis normal y el uso de superdosis, aun así, hasta la 5ª semana se puede considerar como tendencia ( $p < 0,1$ ) un mayor peso con la superdosis en comparación a la dosis normal. Los resultados obtenidos coinciden con Viveros y *col.*, (2002) quien utilizó un control positivo y negativo los cuales mostraron el mismo comportamiento que en la presente investigación, existiendo diferencias solamente entre los tratamientos control, más no entre el uso de dosis normal y superdosis.

Del mismo modo Walk, Santos y Bedford, (2014); Dos Santos, Srinongkote, Bedford y Walk, (2013) y Dos Santos, Walk y Srinongkote, (2014) analizaron varios niveles de inclusión a diferentes edades con fitasas de varios orígenes, concluyendo que las diferencias significativas en cuanto a peso y ganancia de peso se encuentran netamente presentes solo en los tratamientos control positivo (que cumple los requerimientos de calcio, fósforo y energía) y negativo (deficiente en Ca, P y energía), pero manteniéndose una tendencia de un mejor peso hacia la 6ª semana con el uso de superdosis como sucedió en el proyecto en cuestión.



**Tabla N° 5.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre el peso corporal (Kg).

Tratamiento	Edad (Semanas)					
	1	2	3	4	5	6
<b>Control Positivo</b>	0,197 <sup>a</sup>	0,509 <sup>a</sup>	1,010 <sup>a</sup>	1,647 <sup>a</sup>	2,290	2,973
<b>Control Negativo</b>	0,167 <sup>b</sup>	0,423 <sup>b</sup>	0,877 <sup>b</sup>	1,416 <sup>b</sup>	2,087	2,837
<b>Dosis Normal</b>	0,185 <sup>c</sup>	0,488 <sup>c</sup>	0,989 <sup>a</sup>	1,506 <sup>ab</sup>	2,307	2,941
<b>Superdosis</b>	0,189 <sup>ac</sup>	0,499 <sup>ac</sup>	1,006 <sup>a</sup>	1,600 <sup>ab</sup>	2,289	3,007
<b>Significancia</b>	0,000	0,000	0,000	0,069	0,188	0,579
<b>Error estándar</b>	0,002	0,006	0,012	0,033	0,041	0,044
<b>CV (%)</b>	8,37	7,76	7,98	13,20	11,05	9,04

\*a – c. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p<0,05).

Previo al análisis de consumo, índice de conversión, mortalidad y costos de producción es importante mencionar que durante la fase experimental del proyecto existió un imprevisto externo, el cual se puede afirmar fue el mayor y principal causante de mortalidad total; al mismo se lo definió como un desafío respiratorio que inició a la 3ra semana el cual adelantó y prolongó el pico de mortalidad esperado.

A pesar de respetar todos los protocolos de descanso, limpieza y desinfección es bien sabido en la avicultura práctica que en galpones de uso constante tiende a existir una saturación debido a los microorganismos, lo cual no permite tener un completo control del ambiente en el cual ingresa el pollito. A pesar de lo mencionado, los modelos matemáticos planteados en la metodología permitieron corregir dicho error por lo que los parámetros de mayor consideración serán los corregidos por mortalidad, como lo es en el caso de consumo y conversión alimenticia que serán tratados e interpretados posteriormente.

## 6.2 Consumo de alimento semanal y acumulado.

Los resultados referentes a consumo de alimento semanal y acumulado por pollo se muestran en la Tabla N° 6, como se puede observar las diferencias estadísticas importantes (p<0,05), coinciden con varios trabajos ya publicados como lo es en el



caso de Walk y col., (2014), en el cual mediante el uso de sobredosificación de fitasa existe una tendencia de mayor consumo, y por otro lado el control negativo presentó el peor consumo, coincidiendo con el actual trabajo el que a la primera y tercera semana se puede observar mayor consumo con la inclusión de superdosis sucediendo lo contrario en el control negativo (CN), siendo esto relativo al bajo desarrollo de las aves con el CN.

A pesar de esto, existen otros informes como lo es en el caso de Farhadi, Karimi, Sadeghi, Rostamzadeh y Bedford, (2017) y Sacakli, Sehu, Ergün, Genc y Selcuk, (2006), que afirman que la inclusión de fitasas e incluso más ácidos orgánicos no afecta el consumo, ya que este viene marcado principalmente por reguladores hormonales derivados del desarrollo genético, por otro lado las fitasas tampoco afectan palatabilidad, por tanto el consumo podría ser diferente pero estadísticamente insignificante.

### **6.3 Índice de conversión comercial y corregido por mortalidad.**

Como se trató anteriormente para el análisis de los resultados de conversión expuestos en la Tabla N° 7 se tendrá mayor consideración para los que ya estén corregidos por mortalidad puesto que al sobrepasar los valores normales de mortalidad por el desafío respiratorio, la conversión comercial resultó negativa en todos los tratamientos y sin significancia estadística.

En cuanto a conversión corregida por mortalidad se observó tendencia ( $p < 0,1$ ) hacia una mejor conversión en el CP y la peor conversión en CN, siendo esto estadísticamente diferente ( $p < 0,05$ ) en las semanas 1, 2, 3, 5 y 6, permaneciendo la peor conversión siempre en el control negativo y sin mayores diferencias entre el resto de tratamientos. Jiang y col., (2013) reportó el mismo comportamiento en su investigación en la cual, las dietas deficientes en fósforo tenían como repercusión una mayor conversión causando una menor ganancia diaria de peso del ave. Por otro lado, se sugiere mayor control de ambiente y mayor número de tratamientos ya que otras investigaciones como la de Viveros y col., (2002) y las mencionadas en los resultados



de consumo aseguran que no existe relación entre el uso de fitasas y la conversión alimenticia a ninguna edad pero dicha investigación cuenta con el mismo número de tratamientos que la presente por lo que es necesario dilucidar este comportamiento mediante dietas más específicas.

**Tabla N° 6.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre consumo de alimento semanal y consumo de alimento acumulado.

	Edad (semanas)					
	1	2	3	4	5	6
<b>CONSUMO SEMANAL (Kg.)</b>						
<b>Control Positivo</b>	0,162 <sup>a</sup>	0,433	0,676 <sup>a</sup>	1,002	1,123	1,174
<b>Control Negativo</b>	0,161 <sup>ab</sup>	0,440	0,615 <sup>b</sup>	0,947	1,135	1,182
<b>Dosis Normal</b>	0,167 <sup>ab</sup>	0,417	0,669 <sup>a</sup>	1,001	1,132	1,240
<b>Superdosis</b>	0,173 <sup>b</sup>	0,417	0,697 <sup>a</sup>	1,015	1,163	1,283
<b>Probabilidad</b>	0,101	0,093	0,000	0,483	0,946	0,314
<b>Error Estándar</b>	0,001	0,003	0,007	0,016	0,023	0,023
<b>CV (%)</b>	6,86	5,47	6,92	9,88	12,50	11,47
<b>CONSUMO ACUMULADO (Kg.)</b>						
<b>Control Positivo</b>	0,162 <sup>a</sup>	0,595	1,271 <sup>a</sup>	2,273 <sup>ab</sup>	3,397	4,571
<b>Control Negativo</b>	0,161 <sup>ab</sup>	0,601	1,217 <sup>b</sup>	2,164 <sup>b</sup>	3,300	4,483
<b>Dosis Normal</b>	0,167 <sup>ab</sup>	0,585	1,254 <sup>ab</sup>	2,256 <sup>ab</sup>	3,388	4,629
<b>Superdosis</b>	0,173 <sup>b</sup>	0,591	1,288 <sup>a</sup>	2,304 <sup>a</sup>	3,467	4,750
<b>Probabilidad</b>	0,101	0,581	0,029	0,128	0,539	0,423
<b>Error Estándar</b>	0,001	0,004	0,009	0,021	0,039	0,057
<b>CV (%)</b>	6,86	4,12	4,34	5,83	6,99	7,43

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p<0,05).



**Tabla N° 7.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre índice de conversión comercial acumulado (ICc) e índice de conversión corregido por mortalidad acumulado (ICm).

	Edad (semanas)					
	1	2	3	4	5	6
<b>ICc (g/g)</b>						
<b>Control Positivo</b>	0,874 <sup>a</sup>	1,172 <sup>a</sup>	1,470	1,852	2,179	2,479
<b>Control Negativo</b>	0,995 <sup>b</sup>	1,410 <sup>b</sup>	1,504	1,811	2,170	2,483
<b>Dosis Normal</b>	0,936 <sup>c</sup>	1,212 <sup>a</sup>	1,430	1,849	1,979	2,338
<b>Superdosis</b>	0,937 <sup>c</sup>	1,940 <sup>a</sup>	1,446	1,776	2,191	2,457
<b>Probabilidad</b>	0,000	0,000	0,445	0,939	0,290	0,812
<b>Error Estándar</b>	0,010	0,017	0,016	0,047	0,044	0,058
<b>CV (%)</b>	6,60	8,64	6,88	15,59	12,63	14,47
<b>ICm (g/g)</b>						
<b>Control Positivo</b>	0,874 <sup>a</sup>	1,154 <sup>a</sup>	1,307 <sup>a</sup>	1,471	1,588 <sup>a</sup>	1,720 <sup>a</sup>
<b>Control Negativo</b>	0,990 <sup>b</sup>	1,392 <sup>c</sup>	1,433 <sup>b</sup>	1,594	1,696 <sup>b</sup>	1,826 <sup>b</sup>
<b>Dosis Normal</b>	0,936 <sup>c</sup>	1,212 <sup>b</sup>	1,336 <sup>a</sup>	1,609	1,565 <sup>a</sup>	1,717 <sup>a</sup>
<b>Superdosis</b>	0,916 <sup>c</sup>	1,178 <sup>ab</sup>	1,333 <sup>a</sup>	1,509	1,628 <sup>a</sup>	1,752 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	0,000	0,000	0,000	0,493	0,005	0,036
<b>Error Estándar</b>	0,009	0,017	0,012	0,036	0,014	0,016
<b>CV (%)</b>	6,18	8,38	5,47	14,07	5,38	5,53

\* a – c. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p<0,05).

#### 6.4 Mortalidad semanal y acumulada; mortalidad por ascitis semanal y acumulada.

Existieron pocos efectos analizables en cuanto a mortalidad durante el proyecto, los mismos se detallan en la Tabla N° 8; la mortalidad no tuvo resultados significativamente diferentes, pero numéricamente el control positivo fue el más afectado en cuanto a mortalidad debido a la mayor densidad nutricional en la dieta lo cual causó un



desarrollo violento y por ende mayor porcentaje de síndrome ascítico para dicho tratamiento; asimismo, el SA se diagnosticó mediante la relación VD/PC descrita por Julian, 1993, dicha relación también se muestra en la tabla como dato semanal por tratamiento.

Uno de los datos particulares para mayor análisis es la mortalidad más alta por ascitis en el CN de la primera a tercera semana ( $p < 0,05$ ), pero este fenómeno también lo reporta Persia, Utterback, Biggs, Koelkebeck y Parsons, (2003) al analizar diferentes niveles de inclusión de fósforo no fítico (NPP) y temperaturas, concluyendo que, la deficiencia de NPP en la dieta puede resultar en una mayor mortalidad por afecciones metabólicas, sistémicas y cardíacas hasta los 22 días por el requerimiento especial de dicho nutriente.

El efecto inconcluso de mortalidad también puede deberse al número disminuido de animales por unidad experimental, lo cual no permite observar un comportamiento claro sobre esta variable fenómeno reportado por Rodríguez Saldaña, (2016).

Otros estudios, como Taheri, Heidari y Shahir, (2015) no reportan ni dan mayor significancia a la mortalidad considerando los diferentes niveles de inclusión en los tratamientos, esto puede deberse a la baja incidencia de mortalidad por ascitis ya que los estudios podrían estar siendo realizados a nivel del mar donde este problema metabólico no representa un reto.

### **6.5 Hemograma y gasometría sanguínea.**

Las variables analizadas y presentes en la Tabla N° 9, corresponden a hematocrito (Ht), hemoglobina (HB en g/Dl), pH sanguíneo (pH), presión parcial de oxígeno ( $PO_2$  en mmHg), presión parcial de dióxido de carbono ( $PCO_2$  en mmHg), oxígeno enlazado a hemoglobina ( $TCO_2$  en mmol/Dl) y saturación de oxígeno ( $SO_2$ ).

Las variables resultan un tanto complejas de interpretar, puesto que su análisis debe ser en conjunto y buscando relatividad entre ellas basados primordialmente en la fisiología del ave; los resultados más relevantes se observaron en las muestras



realizadas a los 21 días de edad. Inicialmente, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a Ht y HB coincidiendo con trabajos realizados por Saied, Al-Jabary y Thalij, (2011) y Al-Mansour, Al-Khalf, Al-Homidan y Fathi, (2011) los cuales probaron varios niveles de inclusión de cultivos fúngicos productores de fitasa y su efecto sobre variables hematológicas sin encontrar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Ghasemi y col., (2006) mediante el uso de *Saccharomyces cerevisiae* y fitasa a diferentes niveles afirma que existen efectos más notorios en variables productivas y hematologías en la fase inicial del crecimiento del pollo gracias a la adaptación metabólica existente antes del pico de producción y crecimiento; con base a lo antes mencionado se puede observar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las variables de  $PO_2$ ,  $TCO_2$ ,  $PCO_2$ ,  $SO_2$  únicamente entre en control positivo y el resto de tratamientos; Powell, (2015) inicia definiendo al  $P_{50}$  para explicar el fenómeno presente en el control positivo, en donde se concluye que un elevado parámetro de  $PO_2$  tiene como efecto una disminución de afinidad de la HB con el  $O_2$  ya que causa un aumento en la  $SO_2$  en relación a la presión parcial de  $O_2$  existente, gracias al autor se identifica una tendencia de mejora en afinidad hacia el oxígeno gracias al uso de fitasas y la erradicación del efecto quelante dentro de la HB.

No existe suficiente evidencia científica actual que relacione niveles de inclusión de fitasa y parámetros de gasometría, pero Scheele y col., 2005, junto con Van Der Klis, Kwakernaak, Buys y Decuypere, (2003) trabajaron con líneas genéticas de pollos más actuales y concluyen que; al encontrarse con parámetros disminuidos de  $PCO_2$  a edades tempranas la incidencia de ascitis tiende a ser mucho más elevada como sucedió en el proyecto, y por otro lado un elevado  $TCO_2$  es relativo a una adaptación metabólica en donde la HB se encuentra aumentando químicamente su enlace al  $O_2$  existente. Todo esto permite inferir y explicar concretamente la elevada mortalidad en el control positivo y da una pauta del funcionamiento de la fitasa, independientemente de la dosis, sobre las variables de gasometría.



**Tabla N° 8.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre la mortalidad (semanal, acumulada, semanal por ascitis y acumulada por ascitis) y relación VD/PC.

	<b>Edad (Semanas)</b>							
	<b>0 - 3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>				
<i>MORTALIDAD SEMANAL (%)</i>								
<b>Control Positivo</b>	1,78	12,89	16,00	10,67				
<b>Control Negativo</b>	1,78	5,33	10,22	15,11				
<b>Dosis Normal</b>	0,00	8,00	8,89	12,44				
<b>Superdosis</b>	0,88	10,15	11,95	14,15				
<b>Probabilidad</b>	0,181	0,224	0,562	0,670				
<b>Error Estándar</b>	0,315	0,318	0,291	0,189				
<b>CV (%)</b>	83,04	64,92	53,40	66,00				
<i>MORTALIDAD ACUMULADA (%)</i>								
<b>Control Positivo</b>	14,67	30,67 <sup>a</sup>	41,33 <sup>a</sup>	46,67				
<b>Control Negativo</b>	7,11	17,33 <sup>b</sup>	32,44 <sup>ab</sup>	39,56				
<b>Dosis Normal</b>	8,00	16,89 <sup>b</sup>	29,33 <sup>b</sup>	36,44				
<b>Superdosis</b>	11,04	22,99 <sup>ab</sup>	37,15 <sup>ab</sup>	45,13				
<b>Probabilidad</b>	0,161	0,013	0,127	0,251				
<b>Error Estándar</b>	0,327	0,444	0,483	0,512				
<b>CV (%)</b>	76,82	48,50	33,03	29,29				
<i>MORTALIDAD CORREGIDA POR ACITIS (%)</i>								
		<b>VD/PC</b>	<b>VD/PC</b>	<b>VD/PC</b>	<b>VD/PC</b>	<b>VD/PC</b>	<b>VD/PC</b>	
<b>Control Positivo</b>	0,00 <sup>a</sup>	0,32	11,11	0,33	8,00	0,31	3,56	0,31
<b>Control Negativo</b>	0,44 <sup>b</sup>	0,30	8,00	0,33	10,22	0,32	6,67	0,32
<b>Dosis Normal</b>	0,00 <sup>ab</sup>	0,29	6,22	0,31	8,00	0,33	5,78	0,33
<b>Superdosis</b>	0,00 <sup>ab</sup>	0,33	7,56	0,32	8,89	0,31	6,67	0,34
<b>Probabilidad</b>	0,007	-	0,423	-	0,851	-	0,619	-
<b>Error Estándar</b>	0,084	-	0,258	-	0,261	-	0,237	-
<b>CV (%)</b>	101,4	-	72,56	-	73,42	-	98,53	-
<i>MORTALIDAD ASCITIS ACUMULADA (%)</i>								
<b>Control Positivo</b>	3,56	14,67	22,67	26,22				
<b>Control Negativo</b>	0,44	8,44	18,67	25,33				
<b>Dosis Normal</b>	1,78	8,00	16,00	21,78				
<b>Superdosis</b>	2,22	9,78	18,67	25,33				
<b>Probabilidad</b>	0,815	0,968	0,996	0,999				
<b>Error Estándar</b>	0,277	1,267	2,290	2,955				
<b>CV (%)</b>	332,9	297,4	289,3	287,6				

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes

(p<0,05).



**Tabla N° 9.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre gasometría variables sanguíneas evaluadas al día 21 de edad.

VARIABLES	Ht (%)	HB (g/Dl)	pH	PO <sub>2</sub> (mmHg)	PCO <sub>2</sub> (mmHg)	TCO <sub>2</sub> (mmol/ dL)	SO <sub>2</sub> (%)
<b>Control Positivo</b>	45,51	15,15	7,096	38,62 <sup>a</sup>	63,22 <sup>a</sup>	20,55 <sup>a</sup>	52,44 <sup>a</sup>
<b>Control Negativo</b>	48,32	16,23	7,049	17,44 <sup>b</sup>	77,65 <sup>b</sup>	23,77 <sup>b</sup>	14,55 <sup>b</sup>
<b>Dosis Normal</b>	48,47	16,13	7,000	16,44 <sup>b</sup>	86,31 <sup>b</sup>	24,00 <sup>b</sup>	13,88 <sup>b</sup>
<b>Superdosis</b>	45,03	15,23	6,994	17,25 <sup>b</sup>	84,62 <sup>b</sup>	22,55 <sup>ab</sup>	22,66 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	0,204	0,244	0,143	0,000	0,009	0,011	0,002
<b>Error Estándar</b>	0,735	0,241	0,017	2,383	2,820	0,428	4,365
<b>CV (%)</b>	9,28	9,12	1,51	62,82	21,71	11,31	101,18

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p<0,05).

**Tabla N° 10.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre gasometría y variables sanguíneas evaluadas al día 42 de edad.

VARIABLES	Ht (%)	HB (g/Dl)	pH	PO <sub>2</sub> (mmHg)	PCO <sub>2</sub> (mmHg)	TCO <sub>2</sub> (mmol/ dL)	SO <sub>2</sub> (%)
<b>Control Positivo</b>	47,83	16,92	7,185	51,00	54,93	22,33	72,66 <sup>a</sup>
<b>Control Negativo</b>	45,11	15,86	7,180	64,66	52,31	20,88	84,00 <sup>b</sup>
<b>Dosis Normal</b>	47,67	16,68	7,212	63,22	51,68	22,33	83,88 <sup>b</sup>
<b>Superdosis</b>	46,50	16,30	7,221	57,44	51,60	22,55	79,55 <sup>ab</sup>
<b>Probabilidad</b>	0,443	0,363	0,483	0,279	0,763	0,436	0,075
<b>Error Estándar</b>	0,650	0,221	0,010	2,728	1,225	0,395	1,780
<b>CV (%)</b>	8,10	7,83	0,91	27,71	13,97	10,77	13,35

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p<0,05).



Como es notorio en la Tabla N° 10, la gasometría al día 42 no presenta mayores datos a analizar, siendo el único dato relevante la  $SO_2$  significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) del CP, en donde gracias a la hipoxia ventilatoria de aclimatación que es un fenómeno fisiológico normal que tiene lugar entre los 21 y 42 días de edad no se produjo, debido a la carga metabólica ocasionada por la dieta del CP; esto pudo causar un mecanismo de compensación tardío disminuyendo la  $SO_2$  debido a la poca afinidad de la HB con el  $O_2$  existente durante el periodo de aclimatación (Powell, 2015).

### **6.6 Enzimas hepáticas del suero.**

En cuanto a comportamiento de enzimas hepáticas las Tablas N° 11 y 12 denotan diferencias estadísticas claras ( $p < 0,05$ ) que deben ser analizadas con base a la situación de cada tratamiento, teniendo como variables la ALT, AST y FA, dichas enzimas deben tener un análisis integral para un claro entendimiento de la situación hepática. Inicialmente, a los 21 días se puede observar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a favor de la inclusión de fitasas coincidiendo con varios estudios como el de Jiang y *col.*, (2013) en el cual le atribuyen al uso de fitasa un menor indicador de ALT por ende un menor desgaste hepático a edades iniciales.

Por otra parte, Viveros y *col.*, (2002) recalcan que la AST es una enzima no relativa al hígado en aves, ya que es más común relacionarla con daño muscular e incluso puede ser relativa a la velocidad de crecimiento del ave, por lo que a pesar de presentar diferencias significativas a 21 y 42 días, no llega a ser concluyente ni específica en cuanto a integridad y funcionamiento hepático, por lo que se sugiere reemplazar a dicha enzima por otras más específicas en futuros análisis.

A pesar que la FA no presentó resultados significativamente concretos ( $p > 0,05$ ) se puede observar un mayor índice de este parámetro a los 21 días, este comportamiento se compara a lo sucedido en el estudio de Atia, Waibel, Hermes, Carlson y Walser, (2000) en el cual la constante ruptura de osteoblastos a edades iniciales causa que la FA se eleve, y en el estudio presente se infiere que no hay daño hepático con el uso de



fitasas puesto que a pesar de estar la FA elevada se compensa con un bajo nivel de ALT.

Finalmente, al día 42 se observaron cambios complejos y significativos en variables hepáticas ( $p < 0,05$ ); sin embargo, se pudo observar cambios contrarios a lo sucedido al día 21 en todos los parámetros, lo cual, según Liu, Ru y Li, (2010) se debe al proceso de adaptación metabólica por parte del ave, teoría que comparte con Johnson, (2000) y muy similar a los resultados obtenidos al utilizar dietas con diferentes contenidos de fitato contrarrestadas con diferentes niveles de inclusión de fitasas en donde a la sexta semana resultó levemente mayor a sus tratamientos control.

**Tabla N° 11.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre las enzimas hepáticas evaluadas al día 21 de edad.

<b>VARIABLES</b>	<b>A.L.T. (U.I)</b>	<b>A.S.T. (U.I)</b>	<b>FA. (U.I)</b>
<b>Control Positivo</b>	14,33 <sup>a</sup>	225,3 <sup>ab</sup>	2074,0
<b>Control Negativo</b>	4,87 <sup>b</sup>	191,7 <sup>b</sup>	2217,0
<b>Dosis Normal</b>	2,83 <sup>b</sup>	195,6 <sup>b</sup>	2706,2
<b>Superdosis</b>	4,36 <sup>b</sup>	233,1 <sup>a</sup>	2342,5
<b>Probabilidad</b>	0,000	0,046	0,245
<b>Error Estándar</b>	0,898	6,503	113,8
<b>CV (%)</b>	18,44	81,64	28,76

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

En el caso del presente proyecto se observa un parámetro de ALT elevado en los tratamientos con inclusiones de fitasa, pero es notorio que la FA es la menor ante los tratamiento control por lo que se sugiere un mayor funcionamiento hepático pero sin destrucción de tejidos, todo debido a un proceso eficiente de adaptación apoyado en el uso de la fitasa y por ende liberación del inositol, mostrando concordancia con Walk y col., (2014) quienes sugieren una mayor liberación de inositol por el uso de fitasas.



**Tabla N° 12.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre las enzimas hepáticas evaluadas al día 42 de edad.

<b>VARIABLES</b>	<b>A.L.T. (U.I)</b>	<b>A.S.T. (U.I)</b>	<b>FA. (U.I)</b>
<b>Control Positivo</b>	32,29 <sup>a</sup>	479,2 <sup>a</sup>	2027,2
<b>Control Negativo</b>	32,78 <sup>a</sup>	405,5 <sup>ab</sup>	2567,8
<b>Dosis Normal</b>	45,44 <sup>ab</sup>	458,0 <sup>ab</sup>	2218,4
<b>Superdosis</b>	56,25 <sup>b</sup>	370,3 <sup>b</sup>	1915,9
<b>Probabilidad</b>	0,002	0,121	0,248
<b>Error Estándar</b>	2,75	17,90	121,1
<b>CV (%)</b>	39,70	25,08	33,29

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

### 6.7 Cenizas, calcio y fósforo en tibias.

La Tabla N° 13 muestra los resultados referentes a el contenido de cenizas, calcio (Ca) y fósforo (P) a los 21 días de edad, en la cual se puede observar las diferencias en el contenido de cenizas, Ca y P, en donde el control positivo resultó con un mayor porcentaje, explicándose este fenómeno por el alto aporte de calcio y fósforo de la dieta; Viveros y col., (2002) presentaron en su investigación resultados similares afirmando que al disminuir el fósforo no fítico como en el caso del control positivo aumenta la retención de Ca y P hasta la semana 3.

Por otro lado, Rama Rao, Ravindra Reddy y Ramasubba Reddy, (1999) concluyen que no existe relación entre las cenizas de tibia y el uso de dietas con fitasa, pero dichos autores proponen que un menor porcentaje de minerales como el fósforo a edades tempranas no significa una menor retención si no una mejor digestibilidad, lo cual puede estar dado gracias a la inclusión de fitasa que ayudaría a mejorar dicha biodisponibilidad de fósforo como es en el caso de la presente investigación.



**Tabla N° 13.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre porcentaje de cenizas Ca y P evaluadas al día 21 de edad.

<b>VARIABLES</b>	<b>Cenizas. (%)</b>	<b>Ca. (%)</b>	<b>P. (%)</b>
<b>Control Positivo</b>	27,98 <sup>a</sup>	25,00 <sup>a</sup>	10,55 <sup>a</sup>
<b>Control Negativo</b>	25,47 <sup>b</sup>	24,21 <sup>b</sup>	10,48 <sup>a</sup>
<b>Dosis Normal</b>	26,10 <sup>b</sup>	24,26 <sup>b</sup>	10,46 <sup>a</sup>
<b>Superdosis</b>	25,96 <sup>b</sup>	23,11 <sup>c</sup>	9,99 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	0,003	0,000	0,002
<b>Error Estándar</b>	0,271	0,159	0,061
<b>CV (%)</b>	6,18	3,97	3,57

\*a – c. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Los resultados de cenizas al día 42 (Tabla N° 14), son comparables y permiten contrariar a estudios realizados por Gautier, Walk y Dilger, (2018) y Farhadi y col., (2017) quienes afirman que el uso de fitasa aumenta significativamente la retención de cenizas, Ca y P hacia el final de la crianza, concluyendo que se mejora el aprovechamiento de dichos minerales.

**Tabla N° 14.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre porcentaje de cenizas Ca y P evaluadas al día 42 de edad.

<b>VARIABLES</b>	<b>Cenizas. (%)</b>	<b>Ca. (%)</b>	<b>P. (%)</b>
<b>Control Positivo</b>	20,47 <sup>a</sup>	25,24 <sup>a</sup>	10,66
<b>Control Negativo</b>	19,06 <sup>ab</sup>	24,36 <sup>b</sup>	10,49
<b>Dosis Normal</b>	18,49 <sup>b</sup>	24,41 <sup>b</sup>	10,52
<b>Superdosis</b>	18,57 <sup>b</sup>	24,40 <sup>b</sup>	10,54
<b>Probabilidad</b>	0,040	0,016	0,754
<b>Error Estándar</b>	0,282	0,119	0,055
<b>CV (%)</b>	8,85	2,91	3,14

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).



Esta información es refutable, principalmente por los datos de consumo, en donde al existir una mayor ingesta en altitudes bajas, los resultados tienden a ser los antes mencionados, pero tendrían que ser mejor analizados cuando el pollo se desarrolla en regiones sobre los 1500 m.s.n.m. En contraposición, Sebastian y col., (1996) y Ahmad y col., (2000) mostraron que la fitasa no afecta la concentración de minerales ni de cenizas medidos tibias, por lo que resumen que la suplementación de fitasa en las dietas no genera ningún cambio significativo en la concentración de dichos minerales, hallazgos similares fueron descritos por (Broz y col., 1994).

Por su parte, Leeson, Namkung, Cottrill y Forsberg, (2000) observaron un incremento numérico en P y cenizas con el uso de suplementación de dietas con fitasas, y afirman que la concentración de ambos minerales (Ca y P) en las cenizas las tibias fueron relativamente constantes durante su investigación, comportamiento similar a lo acontecido en la actual tesis, en la que al día 42 se evidencian diferencias ( $p < 0,05$ ) entre CP y superdosis, lo cual es un resultado esperado por la disponibilidad y consumo de los nutrientes (Ca y P) brindados en la dieta.

**Tabla N° 15.** Efecto de superdosis de fitasa bacteriana sobre peso al sacrificio, rendimiento a la canal y grasa abdominal evaluadas al día 42 de edad.

<b>VARIABLES</b>	<b>Peso Muerto. (Kg)</b>	<b>Rend. Canal. (%)</b>	<b>Grasa Abd. (gr)</b>
<b>Control Positivo</b>	2,901	86,27	11,13 <sup>a</sup>
<b>Control Negativo</b>	2,793	86,54	10,12 <sup>ab</sup>
<b>Dosis Normal</b>	2,879	86,25	10,59 <sup>ab</sup>
<b>Superdosis</b>	2,870	85,24	8,38 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	0,538	0,662	0,134
<b>Error Estándar</b>	27,037	0,387	1,805
<b>CV (%)</b>	5,67	2,67	25,71

\*a – b. Los valores dentro de la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).



### **6.8 Rendimiento a la canal.**

Para evaluar el parámetro de rendimiento a la canal también se decidió tomar en cuenta el peso de la grasa abdominal presente al momento de la faena (Tabla N° 15). Se encontraron diferencias numéricas para el rendimiento de canal lo cual describen también Sacakli *y col.*, (2006) con el uso de fitasa y ácidos orgánicos frente a dietas con inclusiones bajas de fósforo y Fathi, Al-Mansour, Al-Homidan, Al-Khalaf y Al-Damegh, (2012) mediante el uso de cultivos fúngicos liberadores de fitasa; ambos determinan nula significancia entre el uso de fitasa y rendimiento a la canal.

A pesar de esto, al analizar el peso de la grasa abdominal obtenida en la faena, hay una mejora a favor de la superdosis ( $p < 0,05$ ), en donde el peso de la grasa es menor que en los otros tratamientos, lo cual puede deberse a una mejora del aprovechamiento de energía de la dieta, todo esto se explica por una mayor disociación del IP6, mayor concentración de inositol y la marcada eficiencia hepática al momento de metabolizar grasas y energía (Pirgozliev y Bedford, 2012).

### **6.9 Costos de producción.**

Siguiendo el esquema de cálculo de lo especificado en la metodología, se presentan los costos de producción promedio para cada tratamiento (Tabla N° 16), evidenciando una mayor inversión en superdosis la cual no se vio justificada debido al inconveniente de mortalidad; a pesar del resultado, no hubieron diferencias en costos de producción ( $p > 0,05$ ), sin embargo, los mejores costos se obtuvieron mediante la inclusión de fitasas.



**Tabla N° 16.** Costo de alimento y de producción de pollo vivo al final del experimento

<b>Tratamiento</b>	<b>Costo/Kg de alimento (\$)</b>	<b>Costo por Kg/ de pollo vivo por concepto de alimentación (\$)</b>	<b>Costo/Kg de pollo vivo (\$)</b>
<b>Control Positivo</b>	0,605	1,286	1,981
<b>Control Negativo</b>	0,595	1,261	1,906
<b>Dosis Normal</b>	0,599	1,251	1,865
<b>Superdosis</b>	0,602	1,331	2,002
<b>Probabilidad</b>	-	0,706	0,722
<b>Error Estándar</b>	-	0,025	0,046
<b>CV (%)</b>	-	11,92	14,54



## 7. CONCLUSIONES

No existió un efecto significativo sobre la inclusión de superdosis de fitasas en el alimento a los 42 días, pero el uso de estas enzimas independientemente de la dosis, proporcionó los mejores pesos, consumo y conversiones hasta los 21 días en comparación a los tratamientos control.

No se observaron efectos estadísticamente significativos en la mortalidad, aunque fue notoria una tendencia ( $p < 0,1$ ) a favor del uso de fitasas en donde la mortalidad fue menor y los casos de síndrome ascítico también.

En gasometría se determinó que a los 21 días el uso de fitasas en ambas dosis favoreció la afinidad del oxígeno con la hemoglobina, se considera su uso benéfico para la etapa de adaptación del ave. A los 42 días se pudo observar cómo el efecto del periodo de adaptación del ave entraba en acción ya que no existió mayor diferencia estadística para ningún tratamiento.

Las superdosis de fitasa no tuvo diferencia significativa al contrastarla con la dosis normal, aun así, el uso de fitasas como tal mostró un efecto benéfico a los 21 días ya que los parámetros de integridad hepática revelaron enzimas ALT, AST y FA disminuidas, denotando una mejoría del estado hepático a dicha edad.

La aplicación de superdosis en el proyecto denotó una menor retención de calcio y fósforo a los 21 días, pero a esto se le atribuyó una mayor digestibilidad y disponibilidad de dichos nutrientes, los cuales fueron utilizados para otras funciones de desarrollo, y no hubo excedentes para ser retenidos a nivel óseo durante el periodo de ajuste del ave.

El rendimiento a la canal y costos de producción no mostraron diferencias significativas a favor netamente de la superdosis, pero el uso de fitasas como tal, mostró tendencia ( $p < 0,1$ ) hacia un mejor aprovechamiento de la energía y nutrientes, por ende, mejores costos productivos.



## 8. RECOMENDACIONES

Al buscar explotar el máximo potencial productivo de las aves mediante el uso de superdosis de enzimas con una alimentación específica y de alto rendimiento, las aves disminuyen su capacidad de adaptación.

El avicultor debe entender que un desarrollo productivo de alta exigencia requiere de un ambiente con mayor control para reducir la necesidad de adaptación de las aves. Dicho ambiente y un mayor número de tratamientos como un CN con inclusión de fitasa o diferentes superdosis quedarían en incógnita para futuras investigaciones.

También se da un punto de partida para investigaciones sobre la concentración de mioinositol y su efecto sobre función hepática, junto con indicadores bioquímicos más específicos para determinar el estado del hígado, haciendo posible un análisis más integral respecto al uso de fitasas y su efecto sobre el síndrome ascítico.

Del mismo modo, se recomienda para futuras investigaciones el uso de tratamientos con restricción alimenticia y diferentes niveles de inclusión de fitasas haciendo énfasis en el control del SA para la crianza avícola en la altura.

Finalmente al hablar de integridad hepática se sugiere una correlación estadística entre el peso del hígado del pollo y la cantidad de enzimas ALT, AST y FA presentes en la serología, con el objetivo de determinar si dichas enzimas son específicas y representativas del estado hepático del pollo a diferentes edades.



## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, A., y Cárdenas, M. (2006). Enzimas en la alimentación de las aves. Fitasas. (Spanish). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(4), 377–387.
- Aguilar, J., Otto, Z. M., y Vílchez, C. (2018). Rendimiento productivo e integridad ósea de pollos de carne en respuesta a suplementación dietaria con cuatro fuentes de fitasa comercial. *Rev Inv Vet Perú*, 29(1), 169–179. <http://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14078>
- Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A. U., & Hasan, Z. U. (2000). Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. [http://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00122-4](http://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00122-4)
- Al-Mansour, S., Al-Khalf, A., Al-Homidan, I., & Fathi, M. M. (2011). Feed efficiency and blood hematology of broiler chicks given a diet supplemented with yeast culture. *International Journal of Poultry Science*. <http://doi.org/10.3923/ijps.2011.603.607>
- Almeida Paz, I., & Bruno, L. (2006). Bone mineral density: review. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 8, 69–73. <http://doi.org/1516-635X>
- Andrade, J. G. A. (2000). *Ascitis en pollo de engorda*. Universidad Autonoma agraria. Retrieved from [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1819/T11495\\_AZA\\_ANDRADE, J. GUADALUPE\\_TESIS.pdf?sequence=1](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1819/T11495_AZA_ANDRADE,_J._GUADALUPE_TESIS.pdf?sequence=1)
- Angúlo Asensino, E. (2009). Fisiología aviar. In *Fisiología aviar* (p. 7). Universitat de Lleida.
- Atia, F. A., Waibel, P. E., Hermes, I., Carlson, C. W., & Walser, M. M. (2000). Effect of Dietary Phosphorus, Calcium, and Phytase on Performance of Growing Turkeys. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.1093/ps/79.2.231>
- Barletta, A. (2010). *Enzymes in Farm Animal Nutrition, 2Nd Edition*. (M. R. Bedford & G. G. Partridge, Eds.) (Primera).
- Bedford, M. (2016). Phytase Superdosing - Where are the benefits coming from? Retrieved October 10, 2016, from <http://www.engormix.com/MA-porcicultura/noticias/abvista-muestra-efectos-positivos-t22581/p0.htm>
- Bintvihok, A., & Kositcharoenkul, S. (2006). Effect of dietary calcium propionate on performance, hepatic enzyme activities and aflatoxin residues in broilers fed a diet containing low levels of aflatoxin B1. *Toxicon*. <http://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.09.009>



- Boling, S. D., Douglas, M. W., Johnson, M. L., Wang, X., Parsons, C. M., Koelkebeck, K. W., & Zimmerman, R. A. (2000). The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poultry Science*, 79(2), 224–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10735751>
- Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M., & Bravo, C. (2003). The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*. [http://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00207-4](http://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00207-4)
- Broz, J., Oldale, P., Perrin-Voltz, A. H., Rychen, G., Schulze, J., & Nunes, C. S. (1994). Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilisation in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. *British Poultry Science*. <http://doi.org/10.1080/00071669408417691>
- Bye, J. W., Cowieson, N. P., Cowieson, A. J., Selle, P. H., & Falconer, R. J. (2013). Dual effects of sodium phytate on the structural stability and solubility of proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(2), 290–295. <http://doi.org/10.1021/jf303926v>
- Carlos, L. C. (1991). Investigaciones sobre el síndrome ascítico en pollos de engorda. *Ciencia Veterinaria*, 5. Retrieved from <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CvVol5/CVv5c2.pdf>
- Casso, R., y Montero, R. (1995). Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. 190.121.143.77.
- Cobb-Vantress Inc. (2015). *Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de engorde Cobb500*. Cobb-Vantress. Retrieved from [www.cobb-vantress.com](http://www.cobb-vantress.com)
- Cooper, G., & Hausman, R. (2007). Enzyme Specificity and Regulation. In *The Cell: A Molecular Approach* (pp. 460–499). Washington, DC: ASM Press.
- Cowieson, A.J., Aureli, R., Guggenbuhl, P. & Fru-Nji, F. (2014). Fitasas y Mioinositol, mejorando la eficiencia en la producción avícola. *Animal Production Science*, 1–14. Retrieved from <https://avicultura.info/fitasas-y-mioinositol-mejorando-la-eficiencia-en-la-produccion-avicola/>
- Cowieson, A., Masey-O'Neill, H., & Bedford, M. (2013). Enzymes Beyond Phytase in Poultry Nutrition. *Poultry Research Foundation*, (2009), 1–11. Retrieved from <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>
- Cowieson, A., Bedford, M., York, T., & Wyatt, C. (2013). Exploit Benefits From 'Superdosing'



- Phytase. Retrieved from [http://mydigimag.rrd.com/article/Exploit\\_Benefits\\_From\\_%2525E2%252580%252598Superdosing%2525E2%252580%252599\\_Phytase/1295591/144166/article.html](http://mydigimag.rrd.com/article/Exploit_Benefits_From_%2525E2%252580%252598Superdosing%2525E2%252580%252599_Phytase/1295591/144166/article.html)
- Cowieson, A. J., Aureli, R., & Guggenbuhl, P. (2015). Possible involvement of myo -inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase, 710–719.
- Cowieson, A. J., Hruby, M., & Pierson, E. E. M. (2006). Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition. *Nutrition Research Reviews*. <http://doi.org/10.1079/NRR2006121>
- Cowieson, A. J., Wilcock, P., & Bedford, M. R. (2011). Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*, 67(02), 225–236. <http://doi.org/10.1017/S0043933911000250>
- Currie, R. J. W. (1999). Ascites in poultry: Recent investigations. *Avian Pathology*. <http://doi.org/10.1080/03079459994560>
- Da Silva Catalan, A., & Krabbe, E. (2016). ENZIMAS: FITASE (SUPERDOSE). In *Curso FACTA, Nutricao: matrizes e frangos*. Campiñas: CURSO FACTA.
- Dale, N. (2006). Enzimas para la Avicultura: Mitos y Realidades. In U. N. de C. Pulido, Martha & U. de G. Villegas, Pedro (Eds.), *XI SEMINARIO INTERNACIONAL DE PATOLOGÍA Y PRODUCCIÓN AVIAR PATOLOGÍA Y PRODUCCIÓN AVIAR*. Athens, Georgia.
- Dos Santos, T., Srinongkote, S., Bedford, M. R., & Walk, C. L. (2013). Effect of high phytase inclusion rates on performance of broilers fed diets not severely limited in available phosphorus. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(2), 227–232. <http://doi.org/10.5713/ajas.2012.12445>
- Dos Santos, T. T., & Bedford, M. (2012). Ingredient Phytate content and variability, including susceptibility to phytase degradation. *2nd International Phytase Summit, 12th December 2012, Rome, Italy*.
- Dos Santos, T. T., Walk, C. L., & Srinongkote, S. (2014). Influence of phytate level on broiler performance and the efficacy of 2 microbial phytases from 0 to 21 days of age. *Journal of Applied Poultry Research*. <http://doi.org/10.3382/japr.2013-00842>
- Engelen, A. J., van der Heeft, F. C., Randsdorp, P. H., & Smit, E. L. (1994). Simple and rapid determination of phytase activity. *Journal of AOAC International*.
- Farhadi, D., Karimi, A., Sadeghi, G., Rostamzadeh, J., & Bedford, M. R. (2017). Effects of a
- Jaramillo Ordoñez Mónica Michelle  
Rodríguez Bravo Mateo Xavier



- high dose of microbial phytase and myo-inositol supplementation on growth performance, tibia mineralization, nutrient digestibility, litter moisture content, and foot problems in broiler chickens fed phosphorus-deficient diets. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps/pex186>
- Fathi, M. M., Al-Mansour, S., Al-Homidan, A., Al-Khalaf, A., & Al-Damegh, M. (2012). Effect of yeast culture supplementation on carcass yield and humoral immune response of broiler chicks. *Veterinary World*. <http://doi.org/10.5455/vetworld.2012.651-657>
- Gautier, A. E., Walk, C. L., & Dilger, R. N. (2018). Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps/pex291>
- Ghasemi, H. A., Tahmasbi, A. M., Moghaddam, G., Mehri, M., Alijani, S., Kashefi, E., & Fasihi, A. (2006). The effect of phytase and *Saccharomyces cerevisiae* (Sc47) supplementation on performance, serum parameters, phosphorous and calcium retention of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*. <http://doi.org/10.3923/ijps.2006.162.168>
- Glitsoe, V., Ruckebusch, J.-P., & Knap, I. (2015). *Innovation in enzyme development*.
- Greiner, R., Alminger, M. L., & Carlsson, N. G. (2001). Stereospecificity of myo-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of baker's yeast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2228–2233. <http://doi.org/10.1021/jf0100090>
- Hevia, Q. y M. L. (2004). Termorregulacion en las gallinas, 1–5. Retrieved from [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_aves/stres\\_calorico/12-termorregulacion\\_en\\_gallinas.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/stres_calorico/12-termorregulacion_en_gallinas.pdf)
- Jiang, X. R., Luo, F. H., Qu, M. R., Bontempo, V., Wu, S. G., Zhang, H. J., ... Qi, G. H. (2013). Effects of non-phytate phosphorus levels and phytase sources on growth performance, serum biochemical and tibia parameters of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*. <http://doi.org/10.4081/ijas.2013.e60>
- Johnson, A. L. (2000). *Sturkie's Avian Physiology*. *Sturkie's Avian Physiology*. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-407160-5.00028-2>
- Julian, R. J. (1993). Ascites in poultry. *Avian Pathology*. <http://doi.org/10.1080/03079459308418934>
- Khattak, F. M., Pasha, T. N., Hayat, Z., & Mahmud, a. (2006). Enzymes in poultry nutrition. *Journal of Animal and Plant Sciences*.



- Leeson, S., Namkung, H., Cottrill, M., & Forsberg, C. W. (2000). Efficacy of new bacterial phytase in poultry diets. *Canadian Journal of Animal Science*. <http://doi.org/10.4141/A99-123>
- Liu, C., Zhang, L. F., Song, M. L., Bao, H. G., Zhao, C. J., & Li, N. (2009). Highly efficient dissociation of oxygen from hemoglobin in Tibetan chicken embryos compared with lowland chicken embryos incubated in hypoxia. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps.2009-00311>
- Liu, N., Ru, Y. J., & Li, F. D. (2010). Effect of dietary phytate and phytase on metabolic change of blood and intestinal mucosa in chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00917.x>
- Manobhavan, M., Elangovan, A. V., Sridhar, M., Shet, D., Ajith, S., Pal, D. T., & Gowda, N. K. S. (2016). Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. <http://doi.org/10.1111/jpn.12341>
- Medina, A. A. (2003). *Enzimas Exógenas Utilizadas en la Alimentación de los Animales Domésticos*. Universidad autónoma agraria, Buenavista. Recuperado de: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5906/T13807ANTONIO MEDINA%20 ANADELIA TESIS.pdf?sequence=1](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5906/T13807ANTONIO%20MEDINA%20ANADELIA%20TESIS.pdf?sequence=1)
- Méndez Rojas, P. M. (2011). *USO ESTRATEGICO DE ENZIMAS EN NUTRICION ANIMAL*. Ambato. Retrieved from [http://amevea-ecuador.org/web\\_antigua/memorias2011/pdf/USO ESTRATEGICO DE ENZIMAS EN NUTRICION ANIMAL.pdf](http://amevea-ecuador.org/web_antigua/memorias2011/pdf/USO ESTRATEGICO DE ENZIMAS EN NUTRICION ANIMAL.pdf)
- Neira, A., Nava, E., Iliná, A., Álvarez, G., Gaona, J., y Martínez, J. (2013). Aspectos fundamentales de las fitasas. *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*.
- Olkowski, A. A., Korver, D., Rathgeber, B., & Classen, H. L. (1999). Cardiac index, oxygen delivery, and tissue oxygen extraction in slow and fast growing chickens, and in chickens with heart failure and ascites: a comparative study. *Avian Pathology*, 28(2), 137–146. <http://doi.org/10.1080/03079459994867>
- Persia, M. E., Utterback, P. L., Biggs, P. E., Koelkebeck, K. W., & Parsons, C. M. (2003). Interrelationship between environmental temperature and dietary nonphytate phosphorus in laying hens. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.1093/ps/82.11.1763>



- Pirgozliev, V., & Bedford, M. R. (2012). Energy utilisation and growth performance of chicken fed diets containing graded levels of supplementary bacterial phytase. *British Journal of Nutrition*, 1–6. <http://doi.org/10.1017/S0007114512000943>
- Powell, F. L. (2015). *R - Respiration. Sturkie's Avian Physiology*. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-407160-5.00013-0>
- Quishpe Sandoval, G. J. (2006). *Factores que afectan el consumo de alimento en pollos de engorde y postura*. Zamorano. Recuperado de: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/930/1/T2297.pdf>
- Rama Rao, S. V., Ravindra Reddy, V., & Ramasubba Reddy, V. (1999). Enhancement of phytate phosphorus availability in the diets of commercial broilers and layers. *Animal Feed Science and Technology*. [http://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00020-6](http://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00020-6)
- Ravindran, V. (2013). Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. *Journal of Applied Poultry Research*, 22(3), 628–636. <http://doi.org/10.3382/japr.2013-00739>
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1982). Phytates in Legumes and Cereals. *Advances in Food Research*, 28, 1–92.
- Rodríguez Saldaña, D. (2016). *Efecto de Superdosis De fitasa bacteriana sobre los niveles de oxígeno en sangre y parámetros productivos de pollos machos COBB 500 a 2664 msnm*. Universidad Central del Ecuador.
- Rodriguez Saldaña, D. F. (2016). Uso de enzimas: consideraciones prácticas y su influencia en los costos de producción del alimento en Ecuador. In *XVIII SEMINARIO Internacional de Avicultura AMEVEA-E 2016* (pp. 1–19). Quito: AMEVEA-E, Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Avicultura. <http://doi.org/http://tinyurl.com/jq9dfgp>
- Rosen, G. D., Bedford, M. R., & Partridge, G. G. (2010). Holo-analysis of the efficacy of exogenous enzyme performance in farm animal nutrition. In *Enzymes in farm animal nutrition* (pp. 273–303). Londres: CAB International.
- Ruiz, B. (2011). Puntos clave de las enzimas en la avicultura. Retrieved January 1, 2016, from <http://www.wattagnet.com/articles/10236-puntos-clave-de-las-enzimas-en-la-avicultura>
- Sacakli, P., Sehu, A., Ergün, A., Genc, B., & Selcuk, Z. (2006). The effect of phytase and organic acid on growth performance, carcass yield and tibia ash in quails fed diets with low levels of non-phytate phosphorus. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. <http://doi.org/10.5713/ajas.2006.198>



- Saied, J. M., Al-Jabary, Q. H., & Thalij, K. M. (2011). Effect of dietary supplement yeast culture on production performance and hematological parameters in broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*. <http://doi.org/10.3923/ijps.2011.376.380>
- San Primitivo, T. (2007). La mejora genetica animal en la segunda mitad del siglo XX. *Archivos de Zootecnia*, 520–531. Recuperado de: [Dialnet-LaMejoraGeneticaAnimalEnLaSegundaMitadDelSigloXX-279911.pdf](http://Dialnet-LaMejoraGeneticaAnimalEnLaSegundaMitadDelSigloXX-279911.pdf)
- Sanmiguel, P. A. (2011). Investigación y uso de fitasas en avicultura Research and use of phytase in poultry farming. *Spei Domus*, 7(15), 47–54.
- Scheele, C. W., Van Der Klis, J. D., Kwakernaak, C., Buys, N., & Decuypere, E. (2003). Haematological characteristics predicting susceptibility for ascites. 1. High carbon dioxide tensions in juvenile chickens. *British Poultry Science*. <http://doi.org/10.1080/0007166030001603204>
- Scheele, C. W., Van Der Klis, J. D., Kwakernaak, C., Dekker, R. A., Van Middelkoop, J. H., Buyse, J., & Decuypere, E. (2005). Ascites and venous carbon dioxide tensions in juvenile chickens of highly selected genotypes and native strains. *World's Poultry Science Journal*. <http://doi.org/10.1079/WPS200447>
- Sebastian, S., Touchburn, S. P., Chavez, E. R., & Lague, P. C. (1996). The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps.0750729>
- Selle, P. H., Moss, A. F., Truong, H. H., & Yun, S. (2015). Dietary phytate and exogenous phytase: An expanding comprehension. In *Arkansas Nutrition Conference 2015*. Arkansas: University of Arkansas. Retrieved from <http://www.thepoultryfederation.com>
- Selle, P. H., & Ravindran, V. (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 135(1–2), 1–41. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010>
- Shimada, A. (2015). *Nutrición Animal (Tercera)*. Ciudad de México: Trillas.
- Shin, S., Nam, C., Byung, C., Kwang, T., & Ha, B. (2001). Enzyme mechanism and catalytic property of  $\beta$  propeller phytase. *Structure*. [http://doi.org/10.1016/S0969-2126\(01\)00637-2](http://doi.org/10.1016/S0969-2126(01)00637-2)
- Silversides, F. G., Scott, T. A., & Bedford, M. R. (2004). The Effect of Phytase Enzyme and Level on Nutrient Extraction by Broilers. *Poultry Science*, 83(6), 985–989. <http://doi.org/10.1093/ps/83.6.985>



- Soto, C. J., y Asoc, P. (2010). Valoración de las afectaciones hepáticas en aves ornamentales. *REDVET*.
- Taheri, H. R., Heidari, a., & Shahir, M. H. (2015). Effect of high-dose phytase supplementation in broilers from 22 to 42 days post-hatch given diets severely limited in available phosphorus. *British Poultry Science*, (April), 1–7. <http://doi.org/10.1080/00071668.2015.1020480>
- Trudy Mckee, J. R. M. (2013). *Bioquímica. Journal of Chemical Information and Modeling*. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Vásquez Vélez, I. C. (2011). *Peso pulmonar, valores de hematocrito y concentración de hemoglobina en pollos de engorde sanos y con hipertensión arterial pulmonar según el tiempo de permanencia y la edad de exposición a hipoxia hipobárica*. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/5343/>
- Vilches Perales, C., y Otavio Sorbara, J. (2014). Importancia de las Enzimas en la Nutrición Avícola. Retrieved August 14, 2016, from <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/importancia-de-las-enzimas-en-la-nutricion-avicola.html>
- Viveros, A., Brenes, A., Arija, I., & Centeno, C. (2002). Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.1093/ps/81.8.1172>
- Walk, C. L., Bedford, M. R., & Olukosi, O. A. (2018). Effect of phytase on growth performance, phytate degradation and gene expression of myo-inositol transporters in the small intestine, liver and kidney of 21 day old broilers. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps/pex392>
- Walk, C. L., Bedford, M. R., Santos, T. S., Paiva, D., Bradley, J. R., Wladecki, H., ... McElroy, A. P. (2013a). Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps.2012-02727>
- Walk, C. L., Bedford, M. R., Santos, T. S., Paiva, D., Bradley, J. R., Wladecki, H., ... McElroy, A. P. (2013b). Extra-phosphoric effects of superdoses of a novel microbial phytase. *Poultry Science*, 92(3), 719–725. <http://doi.org/10.3382/ps.2012-02727>
- Walk, C. L., Santos, T. T., & Bedford, M. R. (2014). Influence of superdoses of a novel microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. *Poultry Science*. <http://doi.org/10.3382/ps.2013-03571>



- Young, D. S. (1977). Classification of enzymes and current status of enzyme nomenclature and units. *Annals of Clinical and Laboratory Science*.
- Yu, S., Cowieson, A., Gilbert, C., Plumstead, P., & Dalsgaard, S. (2012). Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *Journal of Animal Science*, 90(6), 1824–1832. <http://doi.org/10.2527/jas.2011-3866>
- Zyla, K., Grabacka, M., Pierzchalska, M., Dulinski, R., & Starzynska-Janiszewska, a. (2013). Effect of inositol and phytases on hematological indices and  $\alpha$ -1 acid glycoprotein levels in laying hens fed phosphorus-deficient corn-soybean meal-based diets. *Poultry Science*, 92(1), 199–204. <http://doi.org/10.3382/ps.2012-02651>



## 10. ANEXOS

**Anexo N° 1.** Matriz nutricional de la enzima utilizada en el experimento (500 y 1000 OTU/Kg de alimento)



www.huvepharma.com

# Matrix Values

2500 OTU – Fixed doses



**OptiPhos**  
The Advanced Phytase

BROILERS/TURKEYS		250 OTU		500 OTU		750 OTU		1000 OTU	
Nutrient	Unit	Contribution (per kg feed)	Fixed dose 100 g/T (per kg product)	Contribution (per kg feed)	Fixed dose 200 g/T (per kg product)	Contribution (per kg feed)	Fixed dose 300 g/T (per kg product)	Contribution (per kg feed)	Fixed dose 400 g/T (per kg product)
av. P poultry	g/kg	1.45	14500	1.68	8400	1.82	6067	1.95	4875
Ca	g/kg	1.45	14500	1.68	8400	1.82	6067	1.95	4875
Na	g/kg	0.25	2500	0.30	1500	0.33	1100	0.35	875
Crude Protein	g/kg	2.25	22500	2.93	14650	3.50	11667	3.92	9800
dig. Lys	g/kg	0.12	1200	0.16	800	0.19	633	0.21	525
dig. Meth	g/kg	0.05	500	0.07	326	0.08	259	0.09	218
dig. Cys	g/kg	0.11	1100	0.14	716	0.17	570	0.19	479
dig. Meth + Cys	g/kg	0.16	1600	0.21	1042	0.25	830	0.28	697
dig. Threo	g/kg	0.13	1300	0.17	850	0.20	667	0.23	575
dig. Tryp	g/kg	0.03	300	0.04	200	0.05	150	0.05	125
dig. Gly + Ser	g/kg	0.30	3000	0.39	1940	0.46	1530	0.52	1310
dig. Arg	g/kg	0.07	700	0.09	453	0.11	357	0.12	306
dig. Val	g/kg	0.12	1200	0.16	776	0.18	612	0.21	524
dig. Isoleuc	g/kg	0.14	1400	0.18	906	0.21	714	0.24	611
AME	Mj/kg	0.222	2220	0.289	1445	0.343	1143	0.389	973
AME	kCal/kg	53	530000	69	345000	82	273333	93	232500

\* when OptiPhos® is combined with Hostazym® X in the feed, apply max. 80% of the AME of each individual enzyme

Huvepharma 1000 • 3<sup>o</sup> Nikolay Naynov Str • 1115 Sofia • Bulgaria • P +359 2 862 5331 • F +359 2 862 5334 • sales@huvepharma.com  
 Huvepharma N.V. • Utendringstraat 80 • 2600 Antwerp • Belgium • P +32 3 288 1840 • F +32 3 289 7845 • customerenquiries@huvepharma.com  
[www.huvepharma.com](http://www.huvepharma.com)





## Anexo N° 2. Análisis NIR de fósforo fítico contenido en el maíz utilizado en las dietas experimentales

**AMINOProx®**

### Analytical Report

---

**Ecuadpremix S.A. (38372), Quito, Ecuador**

Description: maíz alamor / MAIZ ALAMOR  
Material: Corn  
Lab code: NW18-0733976-001  
Date of delivery: 2 October 2018  
Date of release: 2 October 2018  
Crude protein (%)\*: 8.60  
Crude protein (% as is): 8.85  
Dry matter (%): 90.54

**AMINOProx®**

Parameter	Content (% as is)	Content (%)*
Ether Extract	4	3.9
Crude Fibre	1.5	1.5
Crude Ash	1.1	1
Starch	64.9	63.1
Acid Detergent Fibre (ADF)	2.5	2.4
Neutral Detergent Fibre (NDF)	11.5	11.1
Sugar	1	0.9
Phosphorus (mg/kg)	1788	1738
Phytic Phosphorus estim. (mg/kg)	1341	1303

\* DMS: Figures standardized to a dry matter content of 88%  
NIRS calibration equation: pgCORN00\_38057\_v6



### Anexo N° 3. Análisis NIR de fósforo fítico contenido en la soya utilizada en las dietas experimentales

**AMINOProx<sup>®</sup>**

## Analytical Report

---

**Ecuadpremix S.A. (38372), Quito, Ecuador**

Description: pasta de soya / PASTA DE SOY  
Material: Soybean Meal  
Lab code: NW18-0733980-001  
Date of delivery: 2 October 2018  
Date of release: 2 October 2018  
Crude protein (%)\*: 46.14  
Crude protein (% as is): 47.07  
Dry matter (%): 89.77

**AMINOProx<sup>®</sup>**

Parameter	Content (% as is)	Content (%)*
Ether Extract	2.8	2.7
Crude Fibre	3.5	3.4
Crude Ash	6.8	6.7
Starch	0.8	0.8
Acid Detergent Fibre (ADF)	5.4	5.3
Neutral Detergent Fibre (NDF)	13.9	13.6
Sugar	10.5	10.3
Phosphorus (mg/kg)	6340	6215
Phytic Phosphorus estim. (mg/kg)	3804	3729

\* DMS: Figures standardized to a dry matter content of 88%  
NIRS calibration equation: pgSOYA33\_60859\_v7



Anexo N° 4. Protocolo de pesaje semanal, registros y balanza utilizado en el mismo.



		REGISTRO DE PESO SEMANAL							
		<b>D7</b>							
		TESIS: EFECTO SUPERDOSIS DE FITASA N° Pollos: 900 Inicio: jueves, 11 de octubre de 2018							
		CONTROL DE PESO SEMANAL							
SEMANA	1	TRATAMIENTO 1		TRATAMIENTO 2		TRATAMIENTO 3		TRATAMIENTO 4	
		n° pollos	peso Kg	n° pollos	peso Kg	n° pollos	peso Kg	n° pollos	peso Kg
REP		-	-	-	-	-	-	-	-
<b>1</b>		25	4,320kg	25	4,015kg	25	4,337kg	25	4,335kg
		-	-	-	-	-	-	-	-
REP		-	-	-	-	-	-	-	-
<b>2</b>		25	4,362kg	25	4,040kg	25	4,360kg	25	4,407kg
		-	-	-	-	-	-	-	-
REP		-	-	-	-	-	-	-	-
<b>3</b>		25	4,762kg	25	4,390kg	25	4,290kg	25	4,402kg
		-	-	-	-	-	-	-	-
REP		-	-	-	-	-	-	-	-
<b>4</b>		25	4,552kg	25	4,050kg	25	4,553kg	25	4,655kg
		-	-	-	-	-	-	-	-
REP		-	-	-	-	-	-	-	-



**Anexo N° 5.** Pesaje de comederos y registros de consumo utilizados en el proyecto.



		REGISTRO CONSUMO DE ALIMENTO						
		<b>T1</b>						
		TESIS: EFECTO SUPERDOSIS DE FITASA						
		N° Pollos: 900						
		Inicio: jueves, 11 de octubre de 2018						
		CONTROL DE CONSUMO DE ALIMENTO SEMANAL						
SEM N°2	DÍAS	jue 18	vie 19	sáb 20	dom 21	lun 22	mar 23	mié 24
1 1,365	SOBRANTE Kg	1,8048	-	-	2,809	-	-	-
	SERVIDO Kg	1kg	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,7
2 1,345	SOBRANTE Kg	1,0908	-	-	2,629	-	-	-
	SERVIDO Kg	1kg	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,7
3	SOBRANTE Kg	0,9008	-	-	2,769	-	-	-
		1kg	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,7

Jaramillo Ordoñez Mónica Michelle  
Rodríguez Bravo Mateo Xavier

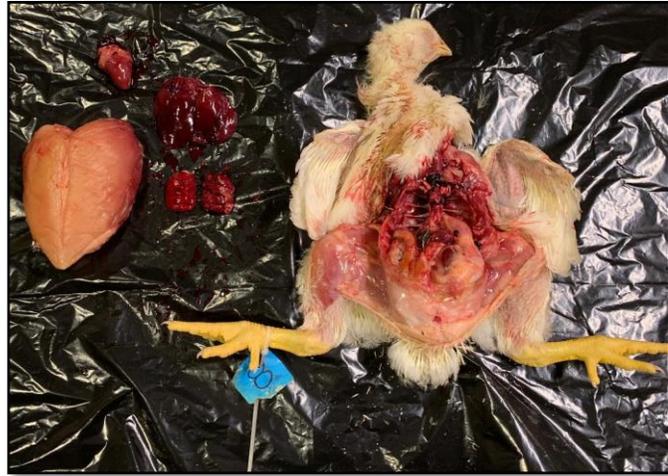


**Anexo N° 6.** Registro utilizado para contabilizar la mortalidad diaria y el peso individual requerido para las correcciones pertinentes.

SEM N°2		CONTROL DE MORTALIDAD SEMANAL						
		DÍAS	jue 18	vie 19	sáb 20	dom 21	lun 22	mar 23
1	N° POLLOS	X	X	X	X	X	X	X
	PESO Kg	-	-	-	-	-	-	-
2	N° POLLOS	X	X	X	X	X	X	X
	PESO Kg	-	-	-	-	-	-	-

**Anexo N° 7.** Registro de necropsia utilizado en toda la mortalidad del proyecto, balanza y pesaje de órganos bajo el protocolo de necropsia.

FECHA		REGISTRO PARA NECROPSIA							
		T1							
REPETICIÓN		TESIS: EFECTO SUPERDOSIS DE FITASA							
		N° Pollos: 900							
		Inicio: Jueves, 11 de Octubre de 2018							
FECHA		2/11/18				SEMANA:	3		
REPETICIÓN	R: 9	R: 5	R: 2	R: 6	R: 8	R: 8	R: 8	R: 2	
PESO MUERTO	860	712	688	720	963	730	665	763	
PESO CORAZÓN	6,064	4,868	6,636	5,775	8,541	5,352	3,688	4,810	
PESO AURICULA	-	-	-	-	-	-	-	-	
PESO VENTRÍCULOS	-	-	-	-	-	-	-	-	
PESO VD:	1,404	1,641	2,011	1,435	1,860	1,393	2,857	1,367	
PESO VI:	3,711	1,982	2,738	1,957	3,119	2,080	1,333	1,645	
RELACION VDM:	-	-	-	-	-	-	-	-	
PESO PULMON IZQ	2,716	2,571	3,960	3,290	4,436	2,947	2,372	2,714	
PESO PULMON DER	2,144	2,831	4,61	3,462	4,264	2,199	2,607	2,607	
PESO HIGADO	22,955	26,372	31,99	38,472	41,184	20,36	16,944	19,568	
PESO PECHUGA	184	125	125	152	190	189	92	116	
SCORE PECHUGA									
LÍQUIDO ABDOMINAL	1	1	1	1	1	2	1	1	



Anexo N° 8. Ejemplo de resultados correspondientes a gasometría y hemograma.

i-STAT G3+

Pc:3  
Nombre paciente:

37.0°C

pH	7.166	
PCO2	64.6	mmHg
PO2	19	mmHg
BEecf	-5	mmol/L
HCO3	23.4	mmol/L
TCO2	25	mmol/L
sO2	18	%

Tipo muestr.: VEN

15:21 31OCT18

ID Operador: 4  
Medico:

Número del lote: 227N180760243  
Serie: 370746  
Versión: JAMS145A  
CLEW: A36  
Parsntn.: 00000000

Rangos de referencia

pH	7.310	7.410	
PCO2	41.0	51.0	mmHg
PO2	80	105	mmHg
BEecf	-2	3	mmol/L
HCO3	23.0	28.0	mmol/L
TCO2	24	29	mmol/L
sO2	95	98	%



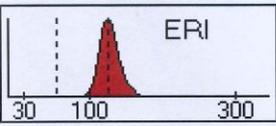


LABORATORIO CLINICO  
NEOLAB

CITOMETRIA HEMATICA  
CUENCA - ECUADOR

**Impresión del informe** Validado

Fecha del informe final 11/23/2018 14:46:21	ID Muestra 20181123057001	Fecha de extracción
Tipo Hombre	Servicio LABORATORIO PRIVADO	Médico MATEO RODRIGUEZ
Comentarios		
ID Paciente 33823	Apellido 1	Nombre 1
Fecha nacimiento 11/23/2018	Edad 0 D	Género Hombre
Comentarios		
Usuario ABX		



				<tango norm >	
ERI	3.25	IL	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	4.50	6.50
HB	16.5		g/dL	13.0	17.0
HCT	47.8	!	%	40.0	54.0
VCM	147	IH	µm <sup>3</sup>	80	100
HCM	50.8	H	pg	27.0	32.0
CHCM	34.6		g/dL	32.0	36.0
IDE	6.3	L	%	11.0	16.0
PLA	14	*L	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	150	500
VPM	7.4	*	µm <sup>3</sup>	6.0	11.0
PCT	0.011	*I	%	0.150	0.500
IDP	4.3	*L	%	11.0	18.0

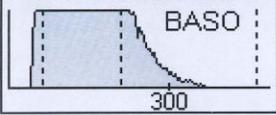
Avisos y alarmas

Alarmas morfológicas  
L1, LL, NL, LN, LL1, ALY, LIC, MAC

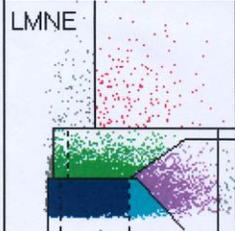
Alarmas del analizador  
NO  
LMNE+

Patología posible  
Linfocitosis  
Neutropenia  
Linfocito Atípico  
Eritroblastos  
Basofilia  
Macroцитos  
Macroцитosis  
Trombocitopenia  
Agregados plaquetarios

Notas  
ERI del análisis 11/23/2018 13:49:42  
LEU del análisis 11/23/2018 13:49:42  
PLA del análisis 11/23/2018 13:49:42  
DIFF del análisis 11/23/2018 13:49:42



				% Rango normal# >			
LEU	----	D	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	4.0	10.0		
		%	#	<			>
NEU	----			40.0	70.0	2.00	7.50
LIN	----			22.0	53.0	1.00	4.00
MON	----			4.0	11.0	0.20	1.00
EOS	----			0.0	7.0	0.00	0.50
BAS	----			0.0	3.0	0.00	0.30
ALY	----			0.0	2.5	0.00	0.25
LIC	----			0.0	3.0	0.00	0.30



**Fórmula manual**

	+	++	+++		%	#	
Anisocitosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Neutrófilos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Metamielocitos
Hipocromía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Bandas	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Mielocitos
Policromía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Linfocitos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Promielocitos
Poiquilocitosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Monocitos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Blastos
Microcitosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Eosinófilos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	ALY
Macroцитosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Basófilos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Otro
Agregados PLA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>	Total (100%)
					<input type="text"/>	<input type="text"/>	Eritroblastos

LABORATORIO CLINICO

Operador: ABX

INMUNOLOGIA - HEMATOLOGIA

Impreso el 11/23/2018 14:46:27

Página 1

Dr. César Gallegos S.  
Cel.: 099 8810717  
LABORATORISTA CLINICO  
Dr. Nardo Vivar I.  
Cel.: 099 8699634  
HEMATÓLOGO CLINICO

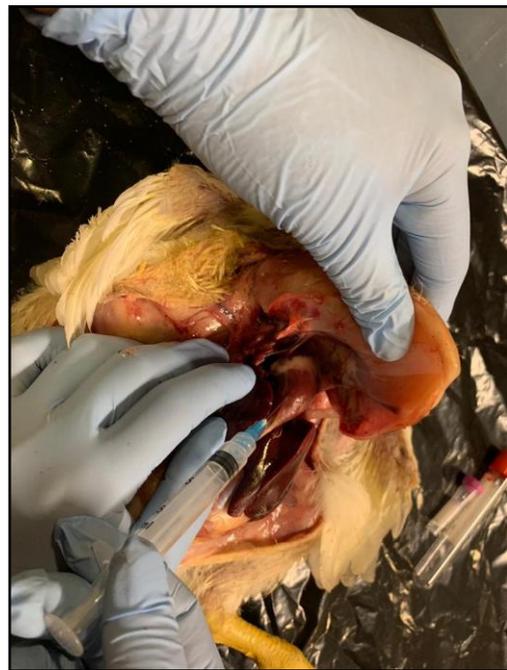
www.neolab.com.ec

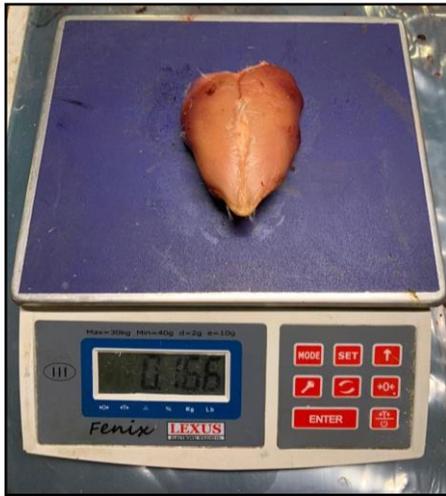
Dir.: Av. El Paraíso 1-102 (Frente al Hospital Regional)  
Telefax: 4096525 • Telf: 4096525 Dominc.: 4140904  
E-mail: neolab\_cue@hotmail.com  
neolabcue@gmail.com  
Cuenca - Ecuador





**Anexo N° 10.** Protocolo de sacrificio, extracción de tibias y pesaje de órganos para la obtención de rendimiento a la canal.





Anexo N° 11. Ejemplo de resultados correspondientes a contenido de cenizas, Ca y P en tibias.

**SETLAB**  
SERVICIOS DE TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y LABORATORIOS AGROPECUARIOS

**REPORTE DE RESULTADOS**

Nombre del Solicitante / Name of the Applicant  
Atención Dr. Diego Rodríguez

Domicilio / Address  
Cuenca

Teléfonos / Telephones  
032 855035

Producto para el que se solicita el Análisis / Product for which the Certification is requested  
Huesos pollo

Marca comercial / Trade Mark  
No tiene

Características del producto / Ratings of the product  
Color, Olor y sabor característico

**REPORTE DE ANALISIS CLORUROS**

Descripción	Código	% Cenizas	% Calcio	% Fósforo
Hueso Pollo 1	Rmin - 5527	27,24	24,22	10,53
Hueso Pollo 2	Rmin - 5528	27,90	24,27	10,41
Hueso Pollo 3	Rmin - 5529	28,14	24,66	10,27
Hueso Pollo 4	Rmin - 5530	28,86	24,55	10,27
Hueso Pollo 5	Rmin - 5531	25,61	24,92	10,83
Hueso Pollo 6	Rmin - 5532	28,38	25,98	11,01
Hueso Pollo 7	Rmin - 5533	29,88	26,54	11,11
Hueso Pollo 8	Rmin - 5534	27,96	25,28	10,49
Hueso Pollo 9	Rmin - 5535	27,92	24,58	10,08
Hueso Pollo 10	Rmin - 5536	24,15	24,16	10,11
Hueso Pollo 11	Rmin - 5537	29,68	24,47	10,64
Hueso Pollo 12	Rmin - 5538	23,20	23,61	10,27
Hueso Pollo 13	Rmin - 5539	23,97	24,33	10,58
Hueso Pollo 14	Rmin - 5540	24,62	24,67	10,73
Hueso Pollo 15	Rmin - 5541	25,08	23,57	10,25
Hueso Pollo 16	Rmin - 5542	25,99	24,00	10,44
Hueso Pollo 17	Rmin - 5543	25,75	24,11	10,48
Hueso Pollo 18	Rmin - 5544	26,82	24,98	10,86

Emitido en: Riobamba, el 19 de noviembre 2018

Ing. Lucía Silva Déley  
RESPONSABLE TÉCNICO

Dr. Ana Chaffa Moína  
ANALISTA QUÍMICA

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio. Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el producto analizado.

"EFICIENCIA, CONFIANZA Y SEGURIDAD, EN SINERGIAS CON SU EMPRESA"



**Anexo N° 12.** Confirmación de homogeneidad y normalidad de la varianza de todos los datos mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk (ejemplo en variable peso vivo).

**Pruebas de normalidad**

Tratamiento		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso Vivo	Control Positivo	,212	9	,200 <sup>*</sup>	,905	9	,283
	Control Negativo	,148	9	,200 <sup>*</sup>	,933	9	,514
	Dosis Normal	,197	9	,200 <sup>*</sup>	,906	9	,291
	Superdosis	,208	9	,200 <sup>*</sup>	,915	9	,352

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

Peso Vivo

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,825	3	32	,163