

## USO DE UNA NUEVA FITASA EN ALIMENTACIÓN DE POLLOS DE ENGORDE Y LECHONES: EFECTOS SOBRE LA DIGESTIBILIDAD Y EXCRECIÓN DE MINERALES

Cerisuelo<sup>1</sup>, A., Cambra-López<sup>2</sup>, M., Gómez<sup>1</sup>, E.A., Ferrer<sup>1</sup>, P., Farinós<sup>1,2</sup>, B., Añó<sup>1,2</sup>, P., Marqués<sup>3</sup>, R., Salaet<sup>3</sup>, I., Aligue<sup>4</sup>, R. y Pascual<sup>2</sup>, J.J.

<sup>1</sup>Centro de Investigación de Tecnología Animal, IVIA, 12400 Segorbe, Castellón

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV, 46022 Valencia

<sup>3</sup>GLOBAL FEED S.L.U. (Grupo TERVALIS), 21041 Huelva

<sup>4</sup>Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, UB. 08036 Barcelona  
cerisuelo\_alb@gva.es

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el uso de enzimas exógenas en la alimentación de monogástricos se ha incrementado para mejorar la eficiencia de conversión y reducir los costes de alimentación. Entre las enzimas más utilizadas en la actualidad se encuentran las fitasas. Estas actúan liberando el fósforo (P) fítico de los ingredientes de origen vegetal (60-80% del P total de los cereales) que no es directamente disponible en monogástricos lo que conlleva una reducción en la incorporación de fuentes inorgánicas de P en los piensos. Además de su acción sobre el P, el uso de fitasas puede mejorar la retención de calcio (Ca) y otros nutrientes. La actividad de las fitasas depende de factores como sus propiedades intrínsecas y origen, su concentración y la cantidad de fitato (sustrato) en los piensos y el tamaño de partícula o la concentración de Ca en los piensos (Aldeola et al., 2006; Ravindran et al., 2006). En este sentido, Adeola et al. (2006) observaron que las fitasas bacterianas de *E. coli* liberan una mayor cantidad de P disponible que las fúngicas. Según Lei y Stahl (2001), las fitasas con una mayor estabilidad térmica, resistencia a la acción proteolítica y rango óptimo de pH son las más eficaces. La mayoría de fitasas expresan su máxima actividad a pH entre 5,0 y 7,5, reduciendo su actividad a pH inferiores, por lo que los bajos valores de pH del estómago (pH 2-3) limitan su actividad en monogástricos.

El objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de un polipéptido bacteriano (producido por *Pichia pastoris* a partir de un gen aislado de *Serratia odorifera*) con actividad fitásica óptima en un rango de pH de entre 3,5 y 5,8 y caracterizada por una alta resistencia a la pepsina y la tripsina, sobre el balance de P y Ca en piensos de broilers y lechones.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 96 broilers macho (Ross) de 21 días de edad ( $871 \pm 27,4$  g de peso) y 36 lechones (Pietrain x (Landrace x Large White)) de 46 días de edad ( $12,3 \pm 1,61$  kg de peso) fueron utilizados en dos experimentos (Exp. 1 y 2, respectivamente). En ambos experimentos se formularon 6 piensos experimentales que diferían en su contenido en minerales y niveles de incorporación de fitasa. Estos consistieron, para cada especie, en un pienso control positivo (C+) sin fitasa, formulado para aportar los niveles de P digestible (Pdig) recomendados para pollos de carne de segunda edad (0,38%) y lechones (0,36%) según las recomendaciones de FEDNA (2008) para aves y FEDNA (2006) para cerdos, un control negativo (C-) sin fitasa y con niveles bajos de Pdig (0,28 y 0,24%, respectivamente) y 4 piensos C- con dosis crecientes de fitasa (250, 500, 1000 y 10000 UI/kg). El Exp. 1 tuvo una duración de 17 días y el Exp. 2 de 49 días.

En el Exp. 1, a los 7 días de estudio, los animales se pesaron y se alojaron por parejas en 48 jaulas metabólicas (8 jaulas/tratamiento) durante un periodo de 10 días. Los últimos 3 días (días 15-17 de estudio), se recogió y pesó el total de excretas producidas por jaula cada 24 h. Tras los 3 días de recogida se realizó un pool de excreta por jaula y se guardó una muestra representativa en congelación (-20°C). Durante este periodo se controló la cantidad de pienso ofertado y rechazado (consumido) por jaula.

El Exp. 2 se llevó a cabo en 3 tandas de 5 animales/tratamiento y tanda. El día 7 de cada tanda se seleccionaron 4 animales de peso medio por tratamiento y se alojaron por parejas en 12 corrales de digestibilidad donde permanecieron 11 días. Los últimos 4 días (días 14-18 de estudio) se recogió y pesó el total de heces producidas cada 24 h y se controló el pienso consumido por corral. Al final del periodo de recogida se realizó un pool de excreta por corral y se almacenó en congelación (-20°C). El día 49 de estudio, se sacrificaron 2 animales por tratamiento mediante aturdimiento y posterior desangrado. De estos animales se extrajo la tibia izquierda y se almacenó en congelación (-20°C) hasta su análisis.

Las muestras de pienso y heces/excretas se analizaron para determinar la concentración de P y Ca total a partir de las cenizas mediante espectrometría de emisión con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES, Varian Inc). Para la determinación del contenido en las tibias, éstas se procesaron hasta obtener las cenizas, a partir de las cuales se determinó el contenido en P y Ca mediante ICP-OES.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron problemas en la salud de los animales en ninguno de los experimentos realizados. La Tabla 1 muestra los resultados de digestibilidad aparente y balance mineral en el Exp. 1. Aunque no se observaron diferencias significativas entre C+ y C-, la inclusión de fitasa mejoró ( $P<0,05$ ) la digestibilidad aparente del Ca y P, como media entre 8 (para el Ca) y 7 (para el P) puntos porcentuales con respecto al tratamiento C-.

**Tabla 1.** Digestibilidad aparente (d) y balance de minerales en pollos de 35 días de vida mediante la utilización de niveles crecientes de una nueva fitasa en los piensos.

n	Tratamiento <sup>1</sup>						EEM	P
	C+	C-	250	500	1000	10000		
	8	8	8	8	8	8		
dCa, %	28,8c	33,6bc	41,0a	43,0a	40,7a	39,7a	2,08	<0,001
dP, %	34,2d	38,8cd	46,3a	46,6a	45,3ab	40,6bc	2,10	<0,001
Ingestión, g/animal y día								
Calcio	1,55 <sup>a</sup>	1,19b	1,27b	1,28b	1,33b	1,26b	0,054	<0,001
Fósforo	1,02 <sup>a</sup>	0,870b	0,884b	0,903b	0,928ab	0,879b	0,037	0,075
Excreción, g/animal y día								
Calcio	1,16 <sup>a</sup>	0,766b	0,750b	0,733b	0,787b	0,760b	0,052	<0,001
Fósforo	0,717 <sup>a</sup>	0,513b	0,473b	0,484b	0,508b	0,523b	0,035	<0,001
Retención, g/animal y día <sup>2</sup>								
Calcio	0,462ab	0,395b	0,519a	0,550a	0,539a	0,503a	0,035	0,013
Fósforo	0,347b	0,331c	0,411ab	0,420a	0,420a	0,356abc	0,024	0,022

a-b Distintas letras en la misma línea indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

<sup>1</sup> C+: dieta control sin fitasa, cumple las recomendaciones de Pdig de FEDNA (2008) para pollos de esa edad; C-: dieta control sin fitasa y con niveles bajos de Pdig (0,28%); 250, 500, 1000 y 10000 UI/kg.

<sup>2</sup> Retención con respecto al ingerido.

En cuanto al balance de Ca y P, la cantidad absoluta de Ca y P ingerido y excretado fue superior ( $P<0,05$ ) en el tratamiento C+ en comparación con el tratamiento C-. La cantidad de Ca retenido fue similar y la cantidad de P retenido fue superior ( $P<0,05$ ) en el tratamiento C+ en comparación con C-. La inclusión de fitasa no disminuyó la cantidad absoluta de P y Ca excretado. Sin embargo, con respecto a la cantidad de Ca y P ingeridos, la retención incrementó de forma lineal ( $P<0,05$ ) en los tratamientos con fitasa.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de digestibilidad aparente y balance mineral del Exp. 2. A diferencia del Exp. 1 (broilers), la digestibilidad del P resultó superior ( $P<0,05$ ) en el tratamiento C+ en comparación con C-. La digestibilidad del Ca y P fue superior ( $P<0,05$ ) en los tratamientos con fitasa, como media entre 5 (para el Ca) y 6 (para el P) puntos porcentuales, en especial en el tratamiento 250, en comparación con el tratamiento C-. La ingestión de P fue superior en el tratamiento C+, mientras que la excreción no fue diferente con respecto al tratamiento C-. La cantidad de P en tibia fue menor ( $P<0,05$ ) en el tratamiento C- en comparación con el tratamiento C+. La ingestión y excreción de P en heces y su retención no fue significativamente diferente entre los tratamientos con fitasa y el C-. Sin embargo, la cantidad de Ca y P retenidos en tibia fueron superiores ( $P<0,05$ ) en todos los tratamientos con fitasa en comparación con C-.

**Tabla 2.** Digestibilidad aparente (d) y balance de minerales en lechones mediante la utilización de niveles crecientes de una nueva fitasa en los piensos.

	Tratamiento <sup>1</sup>						EEM	P
	C+	C-	250	500	1000	10000		
n	8	8	8	8	8	8		
dCa, %	65,5c	66,2cb	74,0a	67,7cb	70,7b	76,0a	1,68	<0,001
dP, %	62,0a	56,1b	63,1a	61,9a	62,4a	67,4a	2,15	0,016
Ingestión, g/animal y día								
Calcio	1,69	1,66	1,76	1,72	1,75	1,73	0,122	0,992
Fósforo	1,257 <sup>a</sup>	0,964b	1,024b	0,969b	0,990b	0,984b	0,071	0,055
Excreción, g/animal y día								
Calcio	0,575 <sup>a</sup>	0,556a	0,465b	0,552a	0,504b	0,417b	0,046	0,145
Fósforo	0,467 <sup>a</sup>	0,417ab	0,378bc	0,381bc	0,367bc	0,317c	0,030	0,031
Minerales en tibia, g								
Calcio	8,21 <sup>a</sup>	5,48c	6,60b	6,56b	6,24bc	7,62a	0,334	<0,001
Fósforo	3,78 <sup>a</sup>	2,46c	2,97b	2,95b	2,90b	3,42a	0,148	<0,001

a-b Distintas letras en la misma línea indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>C+: dieta control sin fitasa, cumple las recomendaciones de P<sub>dig</sub> de FEDNA (2006) para cerdos de esa edad; C-: dieta control sin fitasa y con nivel bajo de P<sub>dig</sub> (0,24%); 250, 500, 1000 y 10000 UI/kg.

En base a los resultados obtenidos bajo las condiciones de este estudio, la dosis recomendada de la nueva fitasa para mejorar la digestibilidad y retención de P sería de 250 UI/kg de pienso tanto en broilers como en lechones. A estos niveles, mejora también el aprovechamiento del Ca. Merece la pena mencionar que la mayoría de estudios con fitasas recomiendan niveles más elevados de inclusión (a partir de 500 UI/kg) tanto en broilers (Rutherford et al., 2004) como en porcino (Aldeola et al., 2006) y que la mayoría no testan dosis inferiores a 500 UI/kg.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeola, O., Olukosi, O.A. Jendza, J.A. Dilger, R.N. & Bedford, M.R. 2006. Animal Science, 82: 637-644.
- FEDNA 2006. Normas FEDNA para la formulación de piensos para cerdos. 113 pp.
- FEDNA 2008. Normas FEDNA para la formulación de piensos para aves. 79 pp.
- X.G. Lei, X.G. & Stahl, C.H. 2001. Appl Microbiol Biotechnol 57: 474-481
- Ravindran, V., Morel, P.C.H., Partridge, G.G., Hruby, M. & J. S. Sands. 2006. Poult. Sci. 85: 82-89.
- Rutherford, S.M., Chung, T.K., Morel, P.C.H. & Moughan, P.J. 2004. Poult. Sci. 83: 61-68.

#### THE USE OF A NOVEL PHYTASE IN BROILER AND PIGLET FEEDING: EFFECTS ON MINERAL DIGESTIBILITY AND EXCRETION

**ABSTRACT:** The effects of inclusion of a new phytase (produced by *Pichia pastoris* from a cloned gene of *Serratia odorifera*) in broiler (Exp.1) and piglet (Exp. 2) feeds on mineral (P and Ca) utilization and retention were studied. A total of 96 male chicks (Ross) and 36 male pigs of 28 and 46 days of age, respectively, were used. Dietary treatments consisted in the administration of 6 diets incorporating different mineral levels and enzyme doses: C+ (commercial levels of Ca and P; without phytase), C- (low levels of P; without phytase), 250 (C- + 250 IU phytase/kg), 500 (C- + 500 IU phytase/kg), 1000 (C- + 1000 IU phytase/kg), 10000 (C- + 12000 IU phytase/kg). Mineral balance and retention were measured from 35 to 38 (Exp.1) and 60 to 64 days of age (Exp. 2). In Exp. 2, the left tibia was removed on day 49 (6 animals per treatment) to determine mineral retention. Calcium and P utilization and retention rates were higher ( $P < 0,05$ ) in treatments with phytase compared with C-. The results of this study indicate the inclusion of 250 units of phytase/kg feed might offer advantages in terms of mineral digestibility and retention both, in broilers and pigs.

**Keywords:** phytase, pig, broiler, efficacy.