

## Eficacia de una nueva fitasa microbiana en dietas de cerdos en crecimiento

### Effectiveness of a new microbial phytase in diets for growing pigs

Yoany Leiva, Alba Cerisuelo, María Cambra y Juan José Pascua

Universitat Politècnica de València, España

#### Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de incorporación en el pienso de cerdos en crecimiento, una nueva fitasa de origen bacteriano sobre el coeficiente de digestibilidad aparente y retención de los diferentes nutrientes en cerdos en crecimiento. Se utilizaron cinco dietas experimentales que difieren en el nivel de incorporación de la fitasa y en el contenido en fósforo (P): la dieta control positivo (C+) con 7,1 g de P total/Kg sin fitasa, dieta control negativo (C-) con niveles bajos de P (5,6 g P total/Kg) sin fitasa y tres dietas a partir del C- suplementado con 250, 500 y 1000 unidades de fitasa, UFT/Kg de pienso. Se utilizaron 75 cerdos machos ( $32,24 \pm 2,77$  Kg peso vivo medio), en 5 tandas, cada tanda conformada por 15 cerdos. El periodo experimental tuvo una duración de 18 días, en cada tanda (7 días de adaptación a corral y pienso, 7 días de adaptación a la jaula de digestibilidad y 4 días de recogida de heces y orina – ensayo digestibilidad). En nuestras condiciones de estudio, la suplementación con fitasa en cerdos en crecimiento, a niveles de 500 y 1000 UFT/kg, produjo un incremento ( $p > 0.05$ ) de la digestibilidad del P en 5 y 9 puntos porcentuales y un aumento en la retención del P en 5,4 y 10 puntos porcentuales, respectivamente, en comparación con dietas bajas en P y sin fitasas (C-). Mientras que otros minerales no se vieron afectados por la dieta suplementada con fitasa.

#### Abstract

This research aimed to evaluate the effects of inclusion of a new phytase of bacterial origin in the feed of growing pigs, on apparent digestibility coefficient and retention of different nutrients. Five experimental diets differing in the addition of phytase and in phosphorus (P) content were used: positive control (C+) with 7.1g of total / kg P without phytase, negative control (C-) with low P (5.6 g total P/ kg) without phytase and three diets base don C- supplemented with 250, 500 and 1000 phytase units,UFT / Kg of feed. Seventy five male pigs ( $32.24 \pm 2.77$  kg live weight on average) were used, in five batches, each batch consisting of 15 pigs. The experimental period lasted 18 days, in each batch (7 days of adaptation to pen and feed, 7 days adaptation to digestibility cage and four days of collection of feces and urine – digestibility trial). In the conditions of this study, the addition of the new phytase in growing pigs at levels of 500 and 1000 UFT / kg produced an increase ( $p > 0.05$ ) in the digestibility of P in 5 to 9 percentage points and an increase in the retention of P in 5.4 and 10 percentage points, respectively compared with diets low in phosphorus and without phytase (C-). Other minerals were not affected by the addition of phytase.

**Keywords:** *fission, uranium 235*

#### 1. Introducción

El fósforo (P) es uno de los minerales esenciales para el organismo de los animales ya que juega un papel muy importante en el metabolismo celular, desarrollo y mantenimiento de los huesos [1]. Aproximadamente el 80% de P presente en el organismo de los animales forma parte de los

huesos. El otro 20% restante se encuentra en diversos compuestos orgánicos que juegan un papel clave en el metabolismo (ejemplo ATP, creatinina, enzimas), en los ácidos nucleicos (ejemplo, ADN, ARN) y en los fosfolípidos de membrana [2].

El P contenido en los piensos se puede encontrar bien en forma orgánica o inorgánica. En los

alimentos de origen vegetal, el P se encuentra en su mayoría en forma orgánica, siendo el ácido fítico ( $IP_6$ ) el más abundante. Alrededor de un 60-80% del P total contenido en los granos y subproductos, se encuentra como parte del  $IP_6$  y sus sales (fitatos de calcio (Ca), potasio (K) y magnesio (Mg)) [3]. Mientras que en los alimentos de origen animal, el P inorgánico es el componente mayoritario, encontrándose en forma de ortofosfatos ( $PO_4^{-3}$ ), siendo ésta la única forma en que los animales pueden absorber y utilizar el P. Por otro lado, las principales fuentes de fosfatos minerales (P inorgánico) disponibles en alimentación animal son los  $PO_4^{-3}$  de sodio (Na), Ca, K, amonio ( $NH_4$ ) y sus combinaciones. Estas pueden contener cantidades variables de meta [ $(PO_3)^{3-}$ ] y piro [ $(P_2O_7)^{4-}$ ] fosfatos, dependiendo de la temperaturas alcanzadas durante el proceso de obtención [4].

Tradicionalmente, las fuentes de P en los piensos para animales han sido la harina de carne y huesos, los subproductos de origen animal en las raciones de monogástricos y las fuentes de p inorgánicos (mineral). Sin embargo, a partir del año 2000 la Unión Europea, prohíbe el uso de estas harinas de origen animal en piensos para animales, provocando un incremento del uso de fuentes de P inorgánicos para cubrir las necesidades de los animales [5]. Por ello, en la actualidad, las principales fuentes de P son el P orgánico contenido en los cereales, legumbres y semillas oleaginosas y las fuentes de P inorgánico.

Como ya se ha comentado, el P almacenado en las materias primas vegetales (P orgánico) se encuentra principalmente en forma de fitato [6]. Los monogástricos como el cerdo no puede aprovechar al máximo ese P, debido a que carecen de las enzimas (fitasas) endógenas necesarias y suficientes para liberar el grupo fosfato de la molécula del fitato en el tracto intestinal [7]. El P no aprovechado es eliminado a través de las heces y la orina. La ineficiencia en la utilización del P puede provocar problemas en la salud y rendimiento de los animales por un lado y también puede generar problemas medioambientales a través de las deyecciones. Con el tiempo, la acumulación de P en los suelos derivado de las deyecciones ganaderas puede dar lugar a las escorrentías y, junto con el nitrógeno (N), pueden contribuir a la eutrofización (enriquecimiento excesivo de nutrientes) del suelo y aguas superficiales [8]. Esta pérdida representa un problema ambiental grave relacionado con la producción porcina y amenaza su sostenibilidad.

Según estudios realizados en países como Dinamarca, Países Bajos y Francia, la excreción fecal de P por cerdo producido es de 1,0 a 1,3 Kg [9]. En el balance de P en porcino, del total de P ingerido, los cerdos retienen el 36%, mientras que el 55% es excretado en las heces y el 9% en la orina [5]. Esta ineficiencia en el aprovechamiento del P ocasiona mayores costes de producción al productor debido a la necesidad de adicionar P inorgánico a las dietas [10]. Además, cabe indicar que las reservas globales de fosfato mineral no son renovables y su agotamiento podría con llevar a una futura crisis en el abastecimiento de P [11].

En la actualidad existe una tendencia creciente a utilizar enzimas exógenas como las fitasas en la industria porcina, con la finalidad de incrementar la disponibilidad del P de las materias primas vegetales y otros minerales y reducir la excreción fecal de las mismas, así como la necesidad de emplear P inorgánico

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Ubicación e instalaciones

El trabajo de investigación se realizó en la unidad experimental del Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA), localizado en Segorbe, Castellón. Para este estudio se utilizó la granja experimental de cerdos de cebo y laboratorio del centro experimental. Parte de los análisis se realizaron los laboratorios del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València (UPV) y el Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana (CECAV).

### 2.2 Animales y diseño experimental

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo entre los meses de enero y abril de 2015. Se utilizaron 75 cerdos machos (Pietrain x APMC-Meidam) en crecimiento, procedentes de una granja de madres del Grupo Fertinagro Nutrientes S.L. El total de animales ingresaron en 5 tandas. Cada tanda estaba conformada por 15 cerdos con PV inicial medio de  $32,24 \pm 2,77$  kg.

En el estudio se emplearon dos salas del complejo de la nave de porcino de cebo del CITA, una sala tipo isowean ("wean to finish") para el periodo en corral de los animales y una sala de digestibilidad donde se realizaron los balances de digestibilidad correspondientes. En ambas salas se controló la

temperatura máxima y mínima diaria mediante sistemas de ventilación y calefacción.

Cada tanda tuvo una duración de 18 días (7 días de adaptación al pienso en corral, 7 días de adaptación a la jaula y 4 días de balance de digestibilidad). En el momento de la recepción de los animales de cada tanda, éstos fueron pesados e identificados de forma individual mediante crotales y distribuidos según peso (pesos similares entre corrales) en 5 corrales, cada uno con 3 individuos. A cada corral se le asignó un tratamiento experimental (5 tratamientos), que se detalla más adelante.

A los 7 días de estudio, se seleccionaron dos de los tres animales del corral (los de peso medio dentro del corral) para la realización de un balance de digestibilidad. Durante el periodo de digestibilidad, los animales seleccionados fueron alojados individualmente en una sala acondicionada con corrales de digestibilidad (1x1,2m<sup>2</sup>), donde permanecieron 11 días (7 días de adaptación a las jaulas y 4 días de recogida de heces y orina. Los animales permanecieron en las jaulas de digestibilidad hasta los 18 días de estudio.

Los tratamientos experimentales, consistieron en 5 piensos (Tratamiento C+, Tratamiento C-, Tratamiento 250, Tratamiento 500 y Tratamiento 1000) que difieren en los niveles de incorporación de fitasa y en su composición: Tratamiento C+ (control positivo): sin fitasa y con niveles comerciales de P (7,1 g/Kg de pienso)

- Tratamiento C- (control negativo): sin fitasa y con niveles bajos de P (5,6 g/Kg de pienso)
- Tratamiento 250: C- suplementado con 250 UFT/kg de pienso.
- Tratamiento 500: C- suplementado con 500 UFT/kg de pienso.
- Tratamiento 1000: C- suplementado con 1000 UFT/kg de pienso.

Los piensos fueron fabricados en la UPV y se formularon para el resto de nutrientes (energía, proteína y aminoácidos) de acuerdo a las recomendaciones que dicta FEDNA [12] para cerdos en crecimiento. La fitasa se incorporó de forma líquida al pienso. La fitasa utilizada es una nueva enzima desarrollada por Fertinagro Nutrientes S.L (Teruel, España) a partir de un gen aislado de *Serratia odorifera* (género de bacteria gram negativa, Enterobacteriaceae), expresado en una cepa de la levadura *Pichia pastoris*. Se trata de una 3-fitasa (EC 3.1.3.8.) que presenta una actividad fitásica preferentemente con un pH óptimo de 3,7 a 5,8 y

temperatura óptima a 50°C con alta resistencia a la pepsina y la tripsina (proteasas del tracto digestivo que catabolizan gran parte de la enzima).

Los piensos experimentales fueron administrados desde el primer día de estudio en forma de harina y ad libitum en comederos tipo tolva de plástico. El agua fue suministrada ad libitum, en bebederos tipo chupete, durante todo el periodo experimental.

## 2.3 Medidas

### 2.3.1 Peso y consumo de pienso

Durante el estudio se registró el peso individual de los animales a la llegada a las instalaciones (0 día de inicio de adaptación), el día de subida a los corrales de digestibilidad y el día de finalización del balance de digestibilidad (día 18 de estudio).

Además, durante toda la prueba se midió el pienso consumido como la diferencia de la cantidad de pienso ofertado por corral y el pienso rechazado al mismo tiempo que el registro de los pesos de los animales. Con esta información se calculó las variables de rendimiento medidas como: Ganancia media diaria de peso (GMD), el consumo medio diario de pienso (CMD) y el índice de conversión alimenticia (IC, kg de pienso/kg de peso).

### 2.3.2 Digestibilidad aparente

Durante los 4 días de recogida del balance de digestibilidad se recogió el total de heces y orina producidos cada 24 horas, se pesaron y fueron almacenadas en refrigeración (4°C), hasta el final del periodo de recogida. Tras los 4 días de recogida se realizó un pool de excretas (heces y orina por separado) por corral y se congeló una muestra representativa (aproximadamente 500 g/animal) en congelación (-20°C) de cada pool hasta su análisis.

Con respecto a la orina, ésta se recogió en recipientes que contenía 200 ml de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 10% en cada uno de ellos y por día, con la finalidad de acidificarla y evitar fermentación y pérdidas de nitrógeno amoniacal por volatilización. El pH de la orina tras su recogida fue inferior a 2 ([13]; [14]; [15])

Paralelamente, durante el periodo de recogida se controló el pienso consumido por jaula al final del periodo de recogida. Al final de los 4 días de recogida se obtuvo una muestra representativa de pienso de cada corral directamente del comedero y se guardó para determinar la MS real del pienso

consumido por tratamiento. El último día de recogida los animales se bajaron de los corrales de digestibilidad y se devolvieron a los corrales de origen.

### 2.3.2 Cálculos y análisis químicos

Los análisis químicos de las muestras obtenidas se realizaron en laboratorios del CITA, UPV y CECAV.

En las muestras de piensos y heces se realizaron las siguientes determinaciones: MS, cenizas (Cz), proteína bruta (PB), EB (energía bruta) y minerales (P y Ca). Los análisis de MS, Cz y PB se realizaron por métodos estándar según la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales [16]. La EB se analizó mediante combustión en una bomba calorimétrica (Gallenkamp, London, Reino Unido). A partir de las cenizas se analizó el contenido en Ca y P total, mediante espectrofotometría según la metodología descrita en la en Haugh y Lantzch [17]. Por otro lado, en las muestras de orina se analizó el contenido en MS y minerales (P y Ca). Todos los análisis de laboratorio excepto las determinaciones de Ca y P se realizaron en la UPV. Las determinaciones de Ca y P se llevaron a cabo en el CECAV. Con los resultados obtenidos de los diferentes nutrientes (pienso, heces y orina)

### 2.4 Análisis estadístico

Una vez finalizadas las pruebas, se realizó un filtrado y análisis exploratorio de los datos, así como los análisis estadísticos pertinentes utilizando un Software estadístico SAS® (Statistical Analysis System).

Para el análisis de los rendimientos productivos y balance de nutrientes, la unidad experimental fue el animal (animales alojados individualmente). Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza, con el procedimiento GLM en el SAS, que incluyeron la dieta como efecto principal y la tanda como efecto bloque.

## 4. Resultados y discusión

### Performance durante el periodo de digestibilidad

En la tabla 1 se muestra el peso vivo medio de los animales a la subida y bajada de las jaulas metabólicas, la GMD, el CMD y el IC de cada tratamiento durante este periodo (periodo de adaptación a jaula y periodo de digestibilidad)

*Tabla 1. Peso medio, Ganancia media diaria de peso (GMD), consumo medio diario de pienso (CMD) e índice de conversión alimenticia (IC), durante el periodo de adaptación a jaula y recogida de muestras de digestibilidad en cerdos en crecimiento alimentados con pienso suplementado con diferentes niveles de una nueva fitasa.*

	Tratamientos					EEM <sub>1</sub>	p-valor
	C+	C-	250	500	1000		
n	10	12	12	12	12	-	-
Peso, kg							
Subida a jaula	38,6	38,7	37,4	38,6	38,5	0,92	0,812
Bajada de jaula	46,4	45,2	44,9	45,6	46,5	1,04	0,750
GMD, kg/día	861a	726b	837a	779a	885a	44,0	0,075
			b	b			
CMD, kg/día	1934	1769	1797	1712	1942	75,3	0,093
	a	ab	ab	b	a		
IC (kg pienso/kg peso)	2,21b	2,51a	2,15b	2,22	2,33a	0,10	0,077
				b	b	2	

*Tratamiento C+: Control positivo; Tratamiento C-: Control negativo; Tratamiento 250: C- suplementado con 250 unidades de fitasa (UFT)/kg; Tratamiento 500: Tratamiento C- suplementado con 500 UFT/kg; Tratamiento 1000: Tratamiento C- suplementado con 1000 UFT/kg.*

*a, b y c Valores dentro de una misma fila sin superíndice en común son significativamente diferentes (p<0.05); 1EEM= Error Estándar de la media.*

Según estos resultados, los animales del tratamiento C- tienen un mayor IC que el resto probablemente debido a su bajo contenido en P y la no adición de fitasa. Al ser menos eficientes, estos animales deberán comer más pienso para igualar a los demás animales con dietas suplementadas con fitasa.

Además, parece que la adición de 250 y 500 UFT/kg podría mejorar el IC de cerdos en crecimiento en comparación con la no adición de fitasa en el pienso (C-). Varley *et al.* [17] en un estudio con cerdos destetados (7,8 a 33 kg) observaron una mejora lineal (P<0,01) del IC cuando el nivel de fitasa microbiana en dieta aumentó (500, 1000 y 1500 UFT/kg) con respecto a una dieta baja en P y sin fitasa. Sin embargo, en cerdos de crecimiento, no se observaron diferencias en el IC, utilizando los mismos niveles de fitasas, respecto a dietas bajas en P.

### Digestibilidad aparente de nutrientes

En la tabla 2 se presentan los resultados de medias del coeficiente de digestibilidad aparente (%) de MS, MO, PB, EB, Cz, P y Ca para los distintos tratamientos.

**Tabla 2. Coeficiente de digestibilidad aparente (%) de la energía y nutrientes en cerdos de crecimiento alimentados con pienso suplementado con diferentes niveles de una nueva fitasa.**

	Tratamientos					EEM <sup>1</sup>	p-valor
	C+	C-	250	500	1000		
Materia seca	80,4	80,3	80,8	81,5	81,1	0,61	0,601
Materia orgánica	82,1	82,0	82,5	83,2	82,7	0,56	0,538
Proteína bruta	80,1	79,2	79,5	79,7	78,2	1,00	0,706
Energía bruta	79,5	79,5	80,2	80,5	80,4	0,59	0,584
Cenizas	57,9a	53,2b	54,6ab	53,0b	55,2ab	1,43	0,121
Calcio	60,9	53,6	53,8	55,8	57,7	2,61	0,253
Fósforo	54,8a	42,7c	45,8bc	48,0b	52,6a	1,43	<0,001

Tratamiento C+: Control positivo; Tratamiento C-: Control negativo; Tratamiento 250: C- suplementado con 250 unidades de fitasa UFT/kg; Tratamiento 500: Tratamiento C- suplementado con 500 UFT/kg; Tratamiento 1000: Tratamiento C- suplementado con 1000 UFT/kg.

a, b y c Valores dentro de una misma fila sin superíndice en común son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ); 1EEM= Error Estándar de la media.

No se observaron diferencias significativas en digestibilidad para la MS, MO, PB, EB y Ca entre los tratamientos C+ y C-. Sin embargo, el coeficiente de digestibilidad aparente de las Cz y P del pienso resultó ser significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento C+ en comparación con el C-.

Entre el tratamiento C- y los tratamientos con fitasa, únicamente se observaron diferencias significativas en el coeficiente de digestibilidad del P. En este sentido, el tratamiento 250 presentó digestibilidades similares al C-. Sin embargo, la inclusión de 500 y 1000 UFT/kg resultó en una mejora ( $p < 0,05$ ) de 5 y 9 puntos porcentuales, respectivamente, con respecto a la no adición de fitasa (C-). Esta mejora del P se atribuye a la capacidad que tienen las fitasas para hidrolizar la molécula del fitato y liberar el fósforo [5] y supone una reducción de la excreción de P al medio.

Otros estudios llevados a cabo con fitasa en cerdos en crecimiento demuestran que la suplementación con fitasas microbianas de dietas para cerdos mejora la eficiencia y la utilización de P y Ca ([18]; [19]; [20]). Poulsen *et al.* [21], observaron un aumento de la digestibilidad del P de 31 a 45, 50 y 53% cuando se suplementaba fitasa a 250, 500 ó 750 UFT/kg, respectivamente, y concluyeron que el incremento de la digestibilidad del P fue mayor en el rango de concentración de 0 a 250 UFT/kg, que de

250 a 750 UFT/kg. También Simons *et al.* [22], lograron un incremento de un 26% en la digestibilidad aparente del P, adicionando fitasa microbiana a 1000 UFT/kg en una dieta de maíz-soja y otra con una dieta con harina de yuca y maíz para cerdos en crecimiento. Por lo tanto, aunque la efectividad de las fitasas para incrementar la digestibilidad del P en porcino parece indiscutible, las dosis de fitasas que barajan estos estudios son variables.

**Tabla 3. Energía digestible (ED) y balance (ingestión, excreción y retención) de calcio (Ca) y fósforo (P) de cerdos en crecimiento alimentados con piensos con diferentes niveles de una nueva fitasa.**

	Tratamientos					EEM	P-valor
	C+	C-	250	500	1000		
ED, kcal/Kg	3611b <sub>c</sub>	3610c	3724a	3687b	3667ab <sub>c</sub>	27,0	0,014
MS							
Ingestión, g/animal y día							
Ca	18,2a	13,2c	12,8c	12,7c	14,7b	0,536	<0,001
P	8,97a	5,89c	5,89c	5,94c	6,65b	0,258	<0,001
Excreción en heces, g/animal y día							
Ca	7,00a	6,29ab	6,21ab <sub>b</sub>	5,66b	5,77ab	0,491	0,283
P	4,08a	3,47b	3,30bc <sub>c</sub>	2,99c	3,11bc	0,174	<0,001
Excreción en orina, g/animal y día							
Ca	1,01a	0,90ab	0,75b	0,80b	0,81ab	0,078	0,120
P	0,021a	0,019ab	0,020a	0,016b	0,020ab	0,002	0,190
Retención total, g/animal y día <sup>2</sup>							
Ca	9,73a	6,05c	5,86c	6,23c	7,52b	0,407	<0,001
P	4,87a	2,47d	2,64cd <sub>d</sub>	2,94c	3,58b	0,148	<0,001
Coefficiente de retención total, % <sup>3</sup>							
Ca	55,0a	46,6b	47,4b	49,5ab <sub>b</sub>	51,1ab	2,67	0,188
P	54,5a	42,3c	45,5bc <sub>c</sub>	47,7b	52,3a	1,35	<0,001

Tratamiento C+: Control positivo; Tratamiento C-: Control negativo; Tratamiento 250: C- suplementado con 250 unidades de fitasa UFT/kg; Tratamiento 500: Tratamiento C- suplementado con 500 UFT/kg; Tratamiento 1000: Tratamiento C- suplementado con 1000 UFT/kg.

a, b y c Valores dentro de una misma fila sin superíndice en común son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ); 1EEM= Error Estándar de la media;

2 Calculado como: mineral ingerido – mineral excretado en heces – mineral excretado en orina; 3 Calculado como: [(mineral ingerido – mineral excretado en heces mineral excretado en orina)/mineral ingerido]\* 100

En el presente estudio, las dosis recomendadas para incrementar la disponibilidad del P son 500 y 1000 UFT/kg de pienso. Sin embargo, a estas dosis no se observa el efecto en otros nutrientes (MS, MO, PB, EB, Cz y Ca). Otros investigadores ([23; [24]; [20]; [25]; [21]), sugieren que la adición de fitasas exógenas podría mejorar la disponibilidad de otros nutrientes debido a que las fitasas tienen la capacidad de hidrolizar la molécula de fitato liberando los minerales ligados al fitato, consecuentemente incrementando la disponibilidad para su absorción en el intestinal [5]. Este efecto podría estar ligado a otros factores como el tipo de ingredientes de la dieta o algunas de las propiedades de las fitasas que no nos han permitido observar estos efectos en el presente estudio.

### **Energía Digestible y balance del Ca y P**

Los resultados del contenido de energía digestible (ED) de los piensos y el balance de minerales de Ca y P obtenidos en este estudio se presentan la tabla 3.

Entre los tratamientos C+ y C- no se observaron diferencias significativas en contenido en ED. Por otro lado, sí se observaron diferencias en la ingestión y excreción netas de P. Ambas fueron superiores ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento C+, como era de esperar por su mayor concentración de este mineral en el pienso.

Sin embargo, la excreción en orina de estos minerales no difirió entre el tratamiento C- y el C+. Con respecto a la cantidad ingerida, el tratamiento C+ mostró una mayor ( $p < 0.05$ ) retención tanto de Ca como de P con respecto al tratamiento C-.

Entre el tratamiento C- y el resto de tratamientos con fitasas se observa un incremento significativo del valor energético de los piensos con 250 y 500 UFT/kg de pienso en comparación con el tratamiento C-. Este incremento en el valor energético supone 114 kcal/kg y 77 kcal/kg más, respectivamente.

La ingestión y excreción de Ca y P en heces y orina fue similar entre los tratamientos con fitasa y el C-. Sin embargo, la retención total de minerales fue significativamente diferente entre tratamientos. Entre el C- y los tratamientos con fitasa se observa que existen únicamente diferencias significativas en la retención de P (retención total y coeficiente de retención total), siendo el coeficiente de retención total de P en el tratamiento 500 y 1000 UFT/kg superior en 5,4 y 10 puntos porcentuales, respectivamente, con respecto al tratamiento C-.

Por lo tanto, los resultados del presente estudio muestran que la adición de esta nueva fitasa en raciones de cerdos de crecimiento a dosis de 500 UFT/kg y 1000 UFT/kg permite liberar parte del P fítico de los ingredientes del pienso, aumentando la cantidad de P disponible y la cantidad de P retenido. Emiola *et al.* [20], también en cerdos de crecimiento (16 kg PV), observan un aumento de la retención del P en un 14%, cuando una fitasa microbiana era añadida a dosis de 1.000 UFT/kg. Mientras que en Mroz *et al.* [26], observaron que con la utilización de fitasa microbiana (*Aspergillus niger*) a dosis 800 UFT/Kg mejora significativamente la retención de Ca en cerdos en crecimiento. La mayoría de los estudios muestran efectos más consistentes sobre el P que sobre el Ca. En conjunto se puede sugerir que el uso de fitasas supone un beneficio medioambiental permitiendo reducir la excreción de P en proporciones variables, entre un 5 y un 40%, tal y como indican Harper *et al.* [27] y los resultados del presente estudio.

### **5. Conclusiones**

Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten extraer las siguientes conclusiones sobre la eficacia de esta nueva fitasa microbiana en dietas de cerdos en crecimiento:

La adición de 250 y 500 UFT/kg podría mejorar el índice de conversión alimenticia de cerdos en crecimiento en comparación con el control negativo sin fitasa.

Las dosis recomendadas de esta nueva fitasa para incrementar la digestibilidad y reducir la excreción del P son 500 y 1000 UFT/kg de pienso. Sin embargo, a estas dosis no se observa el efecto en otros nutrientes.

A las dosis recomendadas (500 y 1000 UFT/kg), se observó un incremento en el coeficiente de retención total (considerando la excreción en heces y orina) de P en 5,4 y 10 puntos porcentuales, respectivamente, en comparación con el control negativo sin fitasa.

### **Agradecimientos**

A las Drs. María Cambra López y Alba Cerisuelo García, gracias por el asesoramiento y apoyo en las diferentes etapas del trabajo de investigación y al Dr. Juanjo José Pascual Amorós por darme la oportunidad de ser parte de este proyecto.

Al Programa Nacional de Becas y Créditos Educativos (PRONABEC), por haberme concedido la beca para realizar mi máster en España.

## Referencias

- [1] Carlos Fernández Martínez, (2005). Aditivos Zootécnicos alternativa a los antibióticos como promotores del crecimiento. Madrid, pág. **7 – 19**.
- [2] D. M. Vitti, & E. Kebreab, (Eds.). (2010). Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals. CABI.
- [3] V. Ravindran, W.L. Bryden, & E.T. Kornegay (1995). Phytates: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry and Avian Biology Reviews*, **6**, **125-143**.
- [4] P. G. Rebollar, & G. Mateos, (1999). El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. Curso de especialización FEDNA. Avances en nutrición y alimentación animal, XV, **19-64**.
- [5] P. H. Selle, & V. Ravindran, (2008). Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science*, **113(2)**, **99-122**.
- [6] A. Casey, & G. Walsh, (2004). Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. *Journal of Biotechnology*, **110(3)**, **313-322**.
- [7] T. Steiner, R. Mosenthin, B. Zimmermann, R. Greiner, & S. Roth, (2007). Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest year and cultivar. *Animal Feed Science and Technology*, **133(3)**, **320-334**.
- [8] O. Adeola, and J. S. Sands, (2003). Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. *Journal of Animal Science*, **81(14\_suppl\_2)**, **E78-E85**.
- [9] H. D. Poulsen, A. W. Jongbloed, P. Latimier, & J. A. Fernández, (1999). Phosphorus consumption, utilisation and losses in pig production in France, The Netherlands and Denmark. *Livestock Production Science*, **58(3)**, **251-259**.
- [10] M. R. Bedford, & G. G. Partridge (Eds.) (2001). *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Wallingford, Oxon, GBR: CABI. ProQuest ebrary. Web. 30 June 2015. Pag **61- 84**.
- [11] P. H. Abelson, (1999). A potential phosphate crisis. *Science*, **283**, **2015**.
- [12] FEDNA. (2013). Necesidades nutricionales para ganado porcino. Normas FEDNA (2ª edición. (Fecha de consulta: 13 abril 2015). Disponible en: [http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/Normas%20PORCINO\\_2013.pdf](http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/Normas%20PORCINO_2013.pdf)
- [13] T. T. Canh, M. W. Verstegen, A. J. Aarnink, & J. W. Schrama, (1997). Influence of dietary factors on nitrogen partitioning and composition of urine and feces of fattening pigs. *Journal of Animal Science*, **75(3)**, **700-706**.
- [14] APHA (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. Centennial Edition, Baltimore, Maryland, USA.
- [15] G. Jarret, A. Cerisuelo, P. Peu, J. Martinez, & J. Y. Dourmad, (2012). Impact of pig diets with different fibre contents on the composition of excreta and their gaseous emissions and anaerobic digestion. *Agriculture, ecosystems & environment*, **160**, **51-58**.
- [16] AOAC (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA.
- [17] W. Haug, & H. J. Lantzsch, (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **34(12)**, **1423-1426**.
- [17] P. F. Varley, B. Flynn, J. J. Callan, & J. V. O'Doherty, (2011). Effect of phytase level in a low phosphorus diet on performance and bone development in weaner pigs and the subsequent effect on finisher pig bone development. *Livestock Science*, **138(1)**, **152-158**.
- [18] D. V. Braña, M. Ellis, E. O. Castaneda, J. S. Sands, & D. H. Baker, (2006). Effect of a novel phytase on growth performance, bone ash, and mineral digestibility in nursery and grower-finisher pigs. *Journal of animal science*, **84(7)**, **1839-1849**.
- [19] T. A. Woyengo, J. S. Sands, W. Guenter, & C. M. Nyachoti, (2008). Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase-and xylanase-supplemented wheat-based diets. *Journal of animal science*, **86(4)**, **848-857**.
- [20] A. Emiola, O. Akinremi, B. Slominski, & C. M. Nyachoti, (2009). Nutrient utilization and manure P excretion in growing pigs fed corn-barley-soybean based diets supplemented with microbial phytase. *Animal science journal*, **80(1)**, **19-26**.
- [21] HD. Poulsen, D. Carlson, JV. Nørgaard, K. Blaabjerg (2010). Phosphorus digestibility is highly influenced by phytase but slightly by calcium in growing pigs. *Livestock Science* **134**, **100-102**.
- [22] P. C. M. Simons, H. A. Versteegh, A. Jongbloed, P. A. Kemme, P. Slump, K. D. Bos, & G. J. Verschoor, (1990). Improvement

- of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition*, **64(02)**, 525-540.
- [23] A. W. Jongbloed, J. T. M. van Diepen, P. A. Kemme, & J. Broz, (2004). Efficacy of microbial phytase on mineral digestibility in diets for gestating and lactating sows. *Livestock Production Science*, **91(1)**, 143-155.
- [24] T. A. Woyengo, J. S. Sands, W. Guenter, & C. M. Nyachoti, (2008). Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase-and xylanase-supplemented wheat-based diets. *Journal of animal science*, **86(4)**, 848-857.
- [25] R. Mosenthin J. Broz (2010). Mineral digestibility and environmental issues. Efficacy and interactions of phytases. *Livestock Science* **134**, 258-260.
- [26] Z. Mroz, A. W. Jongbloed, y P. A. Kemme, 1994. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. *Journal of Animal Science*, **72:126-132**
- [27] A. F. Harper, E. T. Kornegay, & T. C. Schell, (1997). Phytase supplementation of low-phosphorus growing-finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. *Journal of Animal Science*, **75(12)**, 3174-3186.