

COM-18

Efecto de la relación Ca: P_{Dis} y el tipo de fitasa sobre los parámetros productivos, la digestibilidad y la mineralización ósea en pollos de carne de 0 a 14 días

M. HAMDI*, D. SOLA-ORIOL and J.F. PEREZ

Departament de Ciència Animal i dels aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Spain; Servei de Nutrició i Benestar Animal (SNiBA).

*e-mail: manel.hamdi@uab.cat

Resultados previos sugieren que niveles elevados de Ca en la dieta pueden interactuar con los fitatos y comprometer la actividad de las fitasas. Este efecto puede depender del tipo de fitasa añadido en la dieta. El objetivo del presente trabajo fue comparar la actividad de diferentes fitasas comerciales y el ratio Ca:P_{Dis} sobre el crecimiento y la mineralización ósea de los pollos broilers de 0 a 14 días. Para ello, se realizó un experimento con un total de 300 pollitos machos *Cobb* de un día de edad que fueron distribuidos en 10 grupos experimentales y alojados en 60 jaulas (6 réplicas/tratamiento). Se prepararon dos dietas base isonutritivas: T1 (control positivo o Ca: P_{Dis} Alto = 3) y T6 (control negativo o Ca: P_{Dis} Bajo = 2.33); y a partir de ellas se prepararon 8 tratamientos experimentales mediante la adición de 4 fitasas comerciales (A; B; C y D) suplementadas para obtener la misma actividad fitásica (500 FTU/kg). El consumo promedio de pienso y la ganancia de peso se registraron los días 7 y 14. Entre los días 12 y 14 se realizó una recogida total de heces así como se controló el consumo de pienso para determinar la retención de Ca y P. Al final del experimento se sacrificaron 3 aves/jaula y se recogieron las tibias, para determinar el peso y el porcentaje de cenizas de la tibia. Al mismo tiempo se recogieron muestras de contenido digestivo del íleon para determinar la digestibilidad ileal del Ca y P utilizando Ti como marcador. La incorporación de fitasas incrementó la digestibilidad ileal del P. Sin embargo, no se observaron diferencias con las fitasas en los rendimientos productivos (PV, CMD y GMD). No se observó ninguna interacción entre las diferentes fitasas estudiadas y los niveles de Ca. De otra parte, la reducción del ratio (Ca:P_{Dis}) produjo un aumento en la digestibilidad ileal del Ca (63,5 vs 59,4%) y P (56,3 vs 53,1 %). Como consecuencia, los animales alimentados con dietas Ca:P_{Dis} Alto, mostraron mayor IC 0-7d (1,10 vs. 1,07; P<0.05) que los alimentados con Ca:P_{Dis} Bajo; y el porcentaje de cenizas de la tibia (49,3 vs 47,6%) fue superior con el uso de dietas con Ca:P_{Dis} Bajo. Los resultados indican que los parámetros productivos, la mineralización ósea y la digestibilidad ileal del Ca y P estuvieron afectados mayoritariamente por el ratio (Ca:P_{Dis}), y en menor medida por el tipo de fitasa.

Previous results suggest that high levels of calcium in the diet can interact with phytates and compromise the phytase activity, this effect may depend on the type of dietary phytase added. The objective of this study was to compare the effect of different commercial phytase and ratio Ca: P_{DIS} on growth and bone mineralization of broilers from 0 to 14 days. For this, an experiment was conducted with a total of 300 Cobb male chicks 1 day-old were distributed in 10 experimental and housed in 60 cages (6 replicates / treatment) groups. Two basal diets

isonutritive are prepared, the first one T1 (positive control; Ca: P_{DIS} High = 3) and T6 (negative control; Ca: P_{DIS} Low = 2.33) from which 8 experimental treatments were prepared by adding 4 commercial phytase (A; B, C and D) supplemented with the same phytase activity (500 FTU/kg) for all treatments. The average feed intake and weight gain were registered at 7 and 14. Between 12 and 14, total feces collection was conducted and feed intake was controlled. At the end of Experiment 3 birds / cage were sacrificed and the tibias were collected to determine the weight and the percentage of tibia ash. At the same time ileum samples were collected, to determine the ileal digestibility of calcium and phosphorus using Ti as a marker. The addition of phytase increased ileal digestibility of P. However, no differences were observed with phytase in productive performances (BW, ADFI, and ADG). No interaction was observed between the different phytase studied and Ca levels for all parameters measured in this experiment. Furthermore, the reduction of the ratio (Ca: P_{DIS}) produced an increase in ileal digestibility of Ca (63.5 vs 59.4%) and P (56.3 vs 53.1%). As a consequence, the animals fed diets Ca: P_{DIS} High, showed greater FCR 0-7d (1.10 vs. 1.07; P < 0.05) than those fed Ca: P_{DIS} Low. The percentage of tibia ash (49.3 vs 47.6 %) was higher with the use of diets with Ca: P_{DIS} Low. Growth performance, bone mineralization and ileal digestibility of Ca and P were mainly affected by the ratio (Ca: P_{DIS}), and to a lesser extent by the type of phytase.

Palabras clave: Broiler; Fitasa; Calcio; Fósforo

Introducción

El fósforo fítico representa entre el 60 o 70% del P vegetal. En condiciones normales su digestibilidad por parte de las aves es muy baja, salvo que se incorporen fitasas de origen exógeno en el pienso con el objetivo de mejorar la utilización del P del fitato y reducir la incorporación de fósforo mineral. En la actualidad se incorporan fitasas en la mayor parte de piensos en avicultura. Sin embargo, la actividad de las fitasas puede estar limitada por interacciones en la ración. En particular, la molécula de fitato tiene capacidad de quelar cationes bivalentes como el Ca, y precipitar en forma de fitato cálcico que resiste la hidrólisis enzimática por la fitasa (Taylor, 1965). La consecuencia es que niveles elevados de Ca pueden comprometer la actividad de las fitasas (Lei et al., 1994, Kornegay, 1999) en un efecto que puede depender del pH del tracto digestivo y de las características de las fitasas incorporadas.

Este experimento se llevó a cabo con el fin de comparar la eficacia de cuatro tipos diferentes de fitasas comerciales para mejorar la utilización del fósforo fítico en dietas destinadas a pollos de carne que contenían un nivel o relación Ca: P_{DIS} bajo o alto.

Material y métodos

Los procedimientos de experimentación animal utilizados fueron aprobados por el Comité de Ética Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona en cumplimiento de las directrices para animales de investigación de la UE (Parlamento Europeo, 2010).

Se utilizaron 300 pollos de engorde *Cobb* machos de un día de edad que fueron pesados individualmente y distribuidos al azar en 10 grupos experimentales según el tratamiento experimental con 6 réplicas/tratamiento y 5 aves por réplica. Los animales fueron alimentados ad libitum con una dieta formulada para contener los niveles adecuados de nutrientes (Tabla 1) a excepción del Ca y el P total y disponible (FEDNA, 2008). Se prepararon dos dietas base (una con una relación de Ca: P_{Dis} **Alto (3)** y la otra con una relación de (Ca: P_{Dis} **Bajo; 2,33**). En ambas dietas, el nivel de P fue inferior al recomendado para facilitar la observación con las fitasas. De estas dietas basales (Ca: P_{Dis}) **Alto** y (Ca: P_{Dis}) **Bajo**, se prepararon 10 tratamientos experimentales añadiendo 4 fitasas (Fitasas A, B y C de tipo 6-fitasa; fitasa D de tipo 3-fitasa) en estudio. Las dietas se complementaron con un 0,5% de TiO₂ como marcador indigestible. Entre el día 12 y 14 se recogieron heces y controló el consumo de alimento durante dos días consecutivos. Al final del experimento (14d) todos los animales fueron sacrificados por dislocación cervical con el objetivo de recoger 3 tibias por corral para determinar su peso y contenido en cenizas y muestras de contenido del ileon con el fin de tener un "pool" para su posterior análisis Ca, P, y Ti como base de cálculo de la digestibilidad ileal.

La materia seca se determinó mediante la colocación de muestras en una estufa a 105°C durante 24h. Las muestras ileales se digirieron en ácido perclórico y fluorhídrico nítrico y posteriormente se analizaron para P, Ca y Ti por espectroscopia de absorción atómica de llama. Las tibias fueron desgrasadas en éter etílico durante 48 h; se secaron durante 12 horas a 110°C y luego se incineraron durante una noche a 550°C.

Resultados

No se observó una interacción significativa entre el Ca:P_{Dis} y la fitasa en ninguno de los parámetros estudiados. Los resultados de retención y digestibilidad aparente ileal se presentan en la Tabla 2. Niveles Ca: P_{Dis} bajos provocaron un aumento en la digestibilidad ileal de Ca (63,5% frente a 59,4%) y P (56,3% frente a 53,1%) frente a niveles altos de Ca: P_{Dis}. La incorporación de fitasas incrementó la retención de Ca y P, si bien no modificó significativamente la digestibilidad ileal. En la Tabla 3 se presentan los resultados productivos en los que se observa la ausencia de cambios significativos debido a la fuente de fitasa. Sin embargo, las aves alimentadas con la dieta con baja relación Ca: P_{Dis} mostró mayor PV y GMD (P < 0,01) a los 14 días que los animales alimentados con dietas con alto Ca: P_{Dis}. Por el contrario, la administración de una baja relación Ca: P_{Dis} provocó un mayor IC que los animales alimentados con dietas con alto Ca: P_{Dis} en la primera semana de vida (0,904 vs 0,936; P < 0,05). En la Tabla 4 se presenta el efecto de la relación Ca: P_{Dis} y la fuente de fitasa sobre la mineralización ósea al día 14. Se observó un contenido de cenizas superior (P < 0,05) para los animales alimentados con la baja relación Ca: P_{Dis} que aquellos alimentados con la alta Ca: P_{Dis}. Se observó un efecto significativo (P < 0,05) debido a la adición de la fitasa.

Tabla 1: Composición de las dietas experimentales

Ingredientes	T-1:Ca:P_{Dis} Alto	T-6:Ca:P_{Dis} Bajo
Maíz	19,3	20,4
Trigo	35,0	35,0
Soja44	21,2	21,0
Soja extrusionada	15,0	15,0
L-Lis	0,34	0,34
DL-Met	0,31	0,31
L-Thr	0,12	0,12
CaCO ₃	1,29	0,77
Aceite de soja	5,52	5,16
Fosfato bicálcico	1,07	1,07
Sal	0,28	0,28
Corrector	0,30	0,30
Bicarbonato sódico	0,19	0,20
<u>Nutrients (%)</u>		
M.S	88,97	88,85
E.M (Kcal/kg)	3000	3000
P.B	21	21
Lis dig	1,19	1,19
Met dig	0,58	0,58
Met+Cis dig	0,87	0,87
Thr dig	0,75	0,75
Trp dig	0,22	0,22
Ca	0,9	0,7
Fósforo Total	0,57	0,58
Fósforo Dis	0,3	0,3
P fítico	0,25	0,25
NPP	0,32	0,33
Ca:P _{Dis}	3	2,33
<u>Composición analizada(%)</u>		
M.S	89,5	89,4
P.B	20,1	20,1
Ca	0,94	0,85
Fósforo Total	0,68	0,63

Tabla 2. Efecto de diferentes Fitاسas y ratio Ca:P_{Dis} en la retención y digestibilidad ileal del Ca y P en pollos entre los 12 y 14 días de edad

	Ca:P _{Dis}		Fitاسas				p-valor					
	Alto	Bajo	NO	A	B	C	D	S.E.M	Ca:P	Fitاسa	Ca:P x Fitاسa	
P												
Ret (%)	55,0	56,5	53,4 ^c	56,9 ^{ab}	57,6 ^a	56,9 ^{ab}	53,9 ^{bc}	1,74	0,145	0,031	0,639	
Dig ileal (%)	53,1	56,3	53,8	56,8	54,0	54,4	54,1	2,23	0,037	0,688	0,409	
Ca												
Ret (%)	35,1	41,1	38,0	44,1	41,6	33,9	32,9	4,92	0,034	0,06	0,908	
Dig ileal (%)	59,3	63,5	64,1	63,1	60,1	60,7	59,1	2,77	0,015	0,281	0,385	

Ret (%): retención; (Ca:P_{Dis} Alto=3 ; Ca:P_{Dis}Bajo=2,33); No:sinfitاسa. Letras diferentes señalan medias estáticamente diferentes entre tratamientos (P<0.05)

Tabla 3. Influencia del ratio Ca :P_{Dis} y el tipo de fitاسa en el consumo de alimento y los parámetros productivos para pollos broilers de día 0 a 14

		Ca:P _{Dis}		Fitاسas				P-value				
		Alto	Bajo	NO	A	B	C	D	S.E.M	Ca:P	Fitاسa	Ca:P x Fitاسa
PV (g)	7 d	147,6	150,7	147,4	147,7	153,5	146,7	150,5	4,56	0,288	0,550	0,931
	14 d	386,6	395,9	387,1	389,4	399,1	386,4	394,2	7,58	0,059	0,412	0,227
GMD (g/d)	0-7 d	14,9	15,4	14,9	14,9	15,8	14,8	15,4	0,65	0,267	0,534	0,936
	0-14d	24,5	25,2	24,6	24,7	25,4	24,5	25,1	0,54	0,055	0,406	0,232
CMD(g/d)	0-7 d	16,56	16,47	16,33	16,59	17,18	16,01	16,45	0,498	0,840	0,566	0,904
	0-14 d	30,47	30,78	29,99	30,84	31,00	30,33	30,98	0,427	0,427	0,364	0,422
IC	0-7 d	0,904	0,936	0,916	0,902	0,923	0,927	0,933	0,0126	0,006	0,472	0,920
	0-14 d	0,806	0,819	0,821	0,802	0,822	0,809	0,810	0,0109	0,187	0,694	0,647

(Ca:P_{Dis} Alto=3 ; Ca:P_{Dis}Bajo=2,33); No:sinfitاسa; **PV**:peso vivo; **GMD**:Ganancia Media Diaria; **CMD**:Consumo medio diario;**IC**:índice de conversión

Tabla 4. Influencia del ratio Ca :P_{Dis} y el tipo de fitاسa en el peso de la tibia y (%) de cenizas para pollos broilers 0 d a 14 d

	Ca:P _{Dis}		Fitاسas				p-valor					
	Alto	Bajo	S.E.M	NO	A	B	C	D	S.E.M	Ca:P	Fitاسa	Ca:P x Fitاسa
Peso Tibia, g	0,663	0,681	0,007	0,649	0,669	0,688	0,675	0,678	0,0109	0,068	0,156	0,626
Peso Tibia,%/PV	0,172	0,172	0,001	0,169	0,173	0,174	0,173	0,172	0,0021	0,986	0,451	0,906
Cenizas, %	47,63	49,28	0,200	47,33 ^c	48,84 ^{ab}	49,28 ^a	48,57 ^b	48,26 ^b	0,3171	<0,0001	0,001	0,991

No:sinfitاسa

Discusión

En términos globales, los resultados reflejan un efecto significativo sobre los rendimientos y la mineralización al variar los niveles de Ca en la ración, pero menores efectos derivados de la incorporación de fitاسa, o de su interacción con el Ca. La ausencia de efectos en la comparación entre fitاسas coinciden con Juin et al (2001) en un ensayo que estudia el peso corporal de pavos machos alimentados con una 3-vs 6-fitاسa. Sin embargo, Sands et al (2003) registró un incremento en la ganancia de peso y la eficiencia alimentaria en pollos de engorde alimentados con una 6-fitاسa en

comparación con los alimentados con 3-fitasa a 250, 500, 750, o 1000 FTU / kg. El efecto significativo del tipo de fitasa sobre la mineralización ósea coincide con Augspurger et al (2003) que comparó dos fitasas diferentes que no provocaron cambios en el porcentaje de cenizas de la tibia. Sands et al (2003) encontraron los mismos resultados cuando se compararon 6-fitasa con una 3-fitasa en pollos de engorde. Los efectos derivados de los niveles de Ca coinciden con experimentos previos de nuestro grupo (Hamdi et al., 2015) y de otros que muestran que niveles altos de Ca inducen respuestas negativas en los rendimientos productivos (Sebastián et al., 1996) y en la absorción mineral en el intestino (Simpson y Wise, 1990). En concreto, se ha descrito que el calcio puede precipitar con ácidos grasos saturados libres, disminuyendo así la digestibilidad y la energía en la dieta (Pepper et al, 1955; Edwards et al, 1960); interacciona con el P inorgánico en el intestino (Hurwitz y Bar, 1971), y forma complejos con los fitatos que afectan la digestibilidad de diferentes nutrientes y macrominerales. Los resultados observados de retención de Ca y P en el presente ensayo confirman este efecto asociado a los niveles de Ca.

Reducir los niveles de Ca también permitió mejorar la osificación, en un efecto que no fue dependiente de la inclusión de fitasas en el pienso. Hamdi et al (2015) establecieron que los pollitos alimentados de 0 a 14 con un nivel de Ca de 0,7% mostraron mayor peso y porcentaje de cenizas de tibia que los animales alimentados con dietas de 0,5% Ca, pero no había diferencia significativa con el grupo alimentado con 0,9% Ca. Se ha descrito que la formación de complejos entre el Ca y el fitato puede reducir la absorción de Ca (Lonnerdal et al., 1989) pero también puede reducir la actividad de la fitasa endógena y exógena (Tamim et al., 2004). Applegate et al (2003) informó que el uso de 0,90% Ca de la dieta redujo la actividad de fitasa intestinal por 9% y la hidrólisis del fitato por 11,9% en comparación con el uso de 0,40% de Ca. Los resultados de retención de P parecen apuntar en este sentido; sin embargo no permiten evidenciar su posible interacción con la incorporación de las fitasas, al menos durante el periodo de arranque de los pollitos. Es posible que los cambios de los niveles de Ca afecten en mayor medida la absorción de P mineral o la excreción de P endógeno que los cambios producidos en la actividad de las fitasas. En este sentido, Al-Masri (1995) describió también que la digestibilidad P, absorción y excreción endógena disminuyó con el aumento de Ca: P en pollos en los que no se incorporaban fitasas.

Se puede concluir que cambios en los niveles de Ca pueden tener un efecto mucho más marcado sobre los rendimientos productivos y la mineralización ósea que los cambios en la fuente de fitasa utilizada para los pollos broiler de 0 a 14 días de edad.

Referencias

- AL-MASRI, M. R.** (1995) Absorption and endogenous excretion of phosphorus in growing broiler chicks, as influenced by calcium and phosphorus ratios in feed. *Br. J. Nutr.* 74:407–415.
- APPLEGATE, T. J., R. ANGEL, and H. L. CLASSEN** (2003) Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82:1140–1148.
- AUGSPURGER N. R. , D. M. WEBEL, X. G. LEI, and D. H. BAKER** (2003) Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs *J. Anim. Sci.* 2003. 81:474–483.
- EDWARDS, H. M., W. S. DUNAHOO, J. L. CARMON, and H. L. FULLER** (1960) Effect of protein, energy and fat content of the ration on calcium utilization. *Poult. Sci.* 39:1389–1394.
- HAMDI M., S. LOPEZ-VERGE, E. G. MANZANILLA, A. C. BARROETA, and J. F. PEREZ** (2015) Effect of different levels of calcium and phosphorus and their interaction on the performance of young broilers. *Poult. Sci.* 94:2144–2151.

- HURWITZ, S., and A. BAR** (1971) Calcium and phosphorus interrelationships in the intestine of the fowl. *J. Nutr.* 101:677–686.
- JUIN, H., Y. NYS, and J. BROZ** (2001) Comparative evaluation of two phytase preparations in young turkeys fed a wheatbased diet. *Arch. Geflügelk.* 65:231–235.
- KORNEGAY E.T.** (1999) En: *Biotechnology in the feed industry*. Proc. Alltech's 15th Annual Symposium. Ed. T.P. Lyons y K.A. Jacques. Nottingham University Press. Reino Unido. pp: 461-490.
- LEI, X. G., P. K. KU, E. R. MILLAR, M. T. YOKOYAMA, and D. E. ULLREY** (1994) Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean diets of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 72:139–143.
- LONNERDAL, B., A. S. SANDBERG, B. SANDSTROM, and C. KUNZ** (1989) Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *J. Nutr.* 119:211–214.
- PEPPER, W. F., S. J. SLINGER, and I. MOTZOK** (1955) Effect of animal fat on the calcium and phosphorus requirements of chicks. *Poult. Sci.* 34:1216. (Abstr.)
- SANDS, J. S., R. STILBORN, J. BERG, and R. E. SALMON** (2003) Comparative efficacy of two microbial phytases for improving performance in broilers fed low-P diets. *Poult. Sci.* 82(Suppl. 1):118. (Abstr.)
- SEBASTIAN, S., S. P. TOUCHBURN, E. R. CHAVEZ, and P. C. LAGUE** (1996) Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization on broilers chickens. *Poult. Sci.* 75:1516–1523.
- SIMPSON, C. J., and A. WISE** (1990) Binding of zinc and calcium to inositol phosphates (phytate) in vitro. *Br. J. Nutr.* 64:225–232.
- TAMIM, N. M., R. ANGEL, and M. CHRISTMAN** (2004) Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poult. Sci.* 83:1358–1367.
- TAYLOR, T. G.** (1965) The availability of the calcium and P of plant materials for animals. *Proc. Nutr. Soc.* 24:105–112.