



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN,  
INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE  
TECNOLOGÍA**

**CENTRO DE POSGRADOS**

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y NUTRICIÓN ANIMAL  
I PROMOCIÓN**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE MAGISTER EN PRODUCCIÓN Y NUTRICIÓN ANIMAL**

**TEMA: EFECTO DE SUPERDOSIS DE FITASA SOBRE PARÁMETROS  
ZOOTÉCNICOS, MIOINOSITOL PLASMÁTICO Y SATURACIÓN DE  
OXÍGENO EN SANGRE EN POLLOS DE ENGORDE.**

**AUTORES: ROMERO ORELLANA, ALBERTO RENÉ Y  
TAPIA VILLACRÉS, ANDRÉS FABIÁN**

**DIRECTOR: MVZ, MSc RODRÍGUEZ SALDAÑA, DIEGO FERNANDO.**

**SANGOLQUÍ**

**2019**



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA  
TECNOLÓGICA**

**CENTRO DE POSGRADOS**

**CERTIFICACIÓN**

Que el trabajo titulado “**EFFECTO DE SUPERDOSIS DE FITASA SOBRE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS, MIOINOSITOL PLASMÁTICO Y SATURACIÓN DE OXÍGENO EN SANGRE EN POLLOS DE ENGORDE**” fue realizado por los señores *Romero Orellana Alberto René y Tapia Villacrés Andrés Fabián*, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 22 de Agosto 2019.

MVZ, MSc. Diego Fernando Rodríguez Saldaña

**DIRECTOR**

CC: 0103899308



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA  
TECNOLÓGICA**

**CENTRO DE POSGRADOS**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Nosotros, **Romero Orellana, Alberto René** con cedula de ciudadanía N° 0603118118 y **Tapia Villacrés, Andrés Fabián**, con cedula de ciudadanía N° 1723000715, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: ***“EFECTO DE SUPERDOSIS DE FITASA SOBRE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS, MIOINOSITOL PLASMÁTICO Y SATURACIÓN DE OXÍGENO EN SANGRE EN POLLOS DE ENGORDE”*** es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 22 de agosto 2019.

Firma:

Alberto René Romero Orellana

CC: 0603118118

Andrés Fabián Tapia Villacrés

CC: 1723000715



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA  
TECNOLÓGICA  
CENTRO DE POSGRADOS**

**AUTORIZACIÓN**

Nosotros, **Romero Orellana, Alberto René** con cédula de ciudadanía N° 0603118118 y **Tapia Villacrés, Andrés Fabián**, con cédula de ciudadanía N° 1723000715, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, publicar el trabajo de titulación: *“EFECTO DE SUPERDOSIS DE FITASA SOBRE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS, MIOINOSITOL PLASMÁTICO Y SATURACIÓN DE OXÍGENO EN SANGRE EN POLLOS DE ENGORDE”* en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 22 de agosto 2019.

Firma

Alberto René Romero Orellana

CC: 0603118118

Andrés Fabián Tapia Villacrés

CC: 1723000715

## **DEDICATORIA**

A mi familia, por ser constante apoyo en el transcurso de mis estudios, particularmente a mis padres por ser ejemplo de trabajo, responsabilidad, esfuerzo y dedicación cuyas cualidades me transmitieron y las cuales supe aplicar a lo largo de la carrera universitaria.

Andrés

## **DEDICATORIA**

Este trabajo le dedico a Dios por haberme dado la  
vida y brindado el conocimiento necesario para  
culminar este Posgrado.

A mi esposa Isabel mis hijos Isabella, Pablo y  
Francisco que siempre estuvieron a mi lado durante y  
transcurso de este reto.

A mis padres Milton y Teresa por haberme brindado  
siempre su apoyo moral durante todo el proceso de  
formación académica.

Alberto

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco, a Dios por darme la vida y salud para poder terminar el Postgrado.

A mis padres, por darme el apoyo incondicional en todo momento.

A mi director, por brindarme sus conocimientos y guiarme con paciencia y esmero durante la realización de mi tesis de posgrado.

A mi hermana Hipatia y Jacqueline mi novia por su apoyo constante y trabajo arduo junto a mí en cada paso de mi tesis.

Andrés

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradezco a Dios por darme la salud y fortaleza necesaria para cumplir con el deber querido por mis padres que son terminar mis estudios de posgrado.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas, en especial al Departamento de Ciencias de la Vida, Maestría en Producción y Nutrición Animal por medio de su coordinador el Ing. Mario Ortiz por abrirme las puertas y tener una sólida formación profesional.

A todos mis maestros quienes han contribuido con sus conocimientos en mi formación académica y de manera especial al Dr. Diego Fernando Rodríguez Saldaña, Director de este tema de investigación y al Dr. Ramón Álvarez por su apoyo a través de la empresa DSM.

Alberto



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN ..... i

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD..... ii

AUTORIZACIÓN..... iii

DEDICATORIA..... iv

DEDICATORIA..... v

AGRADECIMIENTO..... vi

AGRADECIMIENTO..... vii

ÍNDICE DE CONTENIDO..... viii

ÍNDICE DE FIGURAS ..... xii

RESUMEN..... xiii

ABSTRACT ..... xiv

CAPÍTULO I..... 1

INTRODUCCIÓN ..... 1

1.1. Objetivos..... 3

1.1.1. Objetivo General ..... 3

1.1.2. Objetivos Específicos ..... 3

CAPÍTULO II ..... 4

REVISIÓN DE LITERATURA..... 4

2.1. Producción avícola a nivel mundial ..... 4

2.2. Producción avícola en el Ecuador ..... 5

2.3. Problemas en la producción en zonas andinas ..... 5

2.3.1. Síndrome ascítico ..... 7

2.4. Respiración en las aves..... 11

2.5. Ácido fítico.....	13
2.6. Enzimas a nivel nutricional .....	17
2.6.1. Fitasas .....	20
2.6.1.1. Fitasas ácidas de histidina .....	22
2.6.1.2. Fitasas de hélice B.....	23
2.6.1.3. Fitasa ácida púrpura GmPhy-soja ( <i>Glycine max</i> L. Merr.) .....	24
2.6.1.4. RONOZYME HiPhos .....	25
2.7. Aplicación de superdosis de fitasas .....	27
CAPÍTULO III .....	32
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	32
3.1. Ubicación del experimento.....	32
3.2. Factores en estudio .....	32
3.3. Tratamientos .....	32
3.4. Unidades experimentales .....	33
3.5. Selección de animales.....	33
3.6. Alimento .....	33
3.7. Diseño Experimental .....	34
3.8. Distribución de los tratamientos en las jaulas .....	35
3.9. Infraestructura y equipos .....	36
3.10. Recolección de datos y métodos de evaluación .....	37
3.10.1. Peso corporal .....	37
3.10.2. Consumo de alimento semanal y acumulado .....	37
3.10.3. Índice de conversión.....	37
3.10.4. Mortalidad semanal y acumulada.....	38
3.10.5. Mortalidad semanal y acumulada por síndrome ascítico .....	38
3.10.6. Relación Ventricular.....	38
3.10.7. Rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso grasa abdominal .....	39
3.10.8. Contenido de Mio-inositol.....	39
3.10.9. Mineralización de los huesos.....	40

3.10.10. Saturación de oxígeno en la sangre.....	40
3.10.11. Hematocrito.....	41
3.10.11.1. Procedimiento.....	41
3.10.12. Análisis Económico .....	42
CAPÍTULO IV .....	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1. Peso corporal .....	43
4.2. Consumo de alimento semanal y acumulado .....	44
4.3. Índice de conversión comercial y corregida por mortalidad .....	46
4.4. Mortalidad semanal y acumulada.....	47
4.5. Mortalidad semanal y acumulada por síndrome ascítico .....	48
4.6. Relación Ventricular.....	50
4.7. Rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso de grasa abdominal .....	51
4.8. Contenido de Mio-inositol.....	52
4.9. Mineralización de los huesos.....	52
4.10. Saturación de oxígeno en la sangre .....	54
4.11. Hematocrito .....	54
4.12. Análisis económico .....	56
CAPÍTULO V .....	57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57
5.1. Conclusiones.....	57
5.2. Recomendaciones .....	58
REFERENCIAS .....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	<i>Interpretación de resultados de la relación del peso del VD/VI.....</i>	<i>39</i>
<b>Tabla 2</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el peso corporal (g.). ....</i>	<i>44</i>
<b>Tabla 3</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el consumo semanal y acumulado (g.).....</i>	<i>45</i>
<b>Tabla 4</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el índice de conversión comercial (ICc) y corregida por mortalidad (ICm). ....</i>	<i>46</i>
<b>Tabla 5</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la mortalidad semanal y acumulada expresada en % .....</i>	<i>48</i>
<b>Tabla 6</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la mortalidad por síndrome ascítico semanal y acumulada expresada en %.....</i>	<i>49</i>
<b>Tabla 7</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre % de mortalidad por ascitis en relación al % de mortalidad total. ....</i>	<i>50</i>
<b>Tabla 8</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la relación ventricular. ....</i>	<i>51</i>
<b>Tabla 9</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso de grasa abdominal .....</i>	<i>51</i>
<b>Tabla 10</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre nivel de myoinositol plasmático (μmol/L) .</i>	<i>52</i>
<b>Tabla 11</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la Mineralización de los huesos (%) .....</i>	<i>53</i>
<b>Tabla 12</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la saturación de oxígeno en la sangre.....</i>	<i>54</i>
<b>Tabla 13</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el hematocrito en sangre %. ....</i>	<i>55</i>
<b>Tabla 14</b>	<i>Efecto del uso de fitasa microbiana sobre los costos de producción.....</i>	<i>56</i>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b><i>Figura 1.</i></b> Diagrama del desarrollo del síndrome de ascitis en pollos de engorde .....	10
<b><i>Figura 2.</i></b> Diagrama esquemático del eje Mg-K-fitato .....	14
<b><i>Figura 3.</i></b> Principales vías de degradación de fitatos para las cuatro clases de fitasa.....	24
<b><i>Figura 4.</i></b> Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales .....	35

## **RESUMEN**

El presente trabajo fue realizado en la parroquia de Tumbaco, en pollos de engorde machos COBB 500, donde se evaluó la incidencia de superdosis de fitasa en los parámetros productivos, niveles de inositol plasmático y contenido de cenizas en tibia. Los tratamientos aplicados fueron: T1 (Control Positivo), T2 (Control Negativo), T3 1000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional), T4 2000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional + 150 g/TM on top), T5 3000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional + 300 g/TM on top). El estudio presentó un diseño completamente al azar, los datos se analizaron mediante ANOVA posterior a esto se utilizó Tukey ( $P < 0.05$ ); se midieron las siguientes variables: peso corporal, consumo de alimento semanal y acumulado, índice de conversión, mortalidad semanal y acumulada, mortalidad semanal y acumulada por síndrome ascítico, relación ventricular, rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso de grasa abdominal, contenido de inositol y mineralización de los huesos. Se encontró efectos significativos en el peso corporal a los 42 días entre el T4 (2828,9g) y T2 (2703,1g). En la saturación de oxígeno en sangre T5 (86,43%) fue superior a T2 (78,57%). Se observó un aumento en la concentración plasmática de inositol: T1 (171,00  $\mu\text{mol/L}$ ) y T5 (277,07  $\mu\text{mol/L}$ ). No se evidenciaron diferencias significativas en las demás variables. T5 presentó mayor Beneficio/Costo frente a T1 evidenciándose una diferencia de 0,62%. El uso de superdosis de fitasa es viable económicamente; además tiene influencia positiva sobre las variables sanguíneas.

### **PALABRAS CLAVES:**

- **FITASA**
- **INOSITOL**
- **SÍNDROME ASCÍTICO**

## **ABSTRACT**

This research was development in Tumbaco, in male broiler COBB 500, where was evaluated the incidence of phytase superdose in the productive parameters, plasma inositol levels and tibia ash content. The treatments applied were: T1 (Positive Control), T2 (Negative Control), T3 1000 FYT / Kg (150 g / TM with nutritional matrix), T4 2000 FYT / Kg (150 g / TM with nutritional matrix + 150 g / MT on top), T5 3000 FYT / Kg (150 g / TM with nutritional matrix + 300 g / TM on top). The study presented a completely randomized design, the data were analyzed by ANOVA, after which Tukey was used ( $P < 0.05$ ); the following variables were measured: body weight, weekly and cumulative food consumption, conversion rate, weekly and cumulative mortality, weekly and cumulative mortality due to ascitic syndrome, ventricular relation, carcass yield, chicken breast percentage and abdominal fat weight, inositol content and bone mineralization. Significant effects on body weight were found at 42 days between T4 (2828.9g) and T2 (2703.1g). In blood oxygen saturation T5 (86.43%) was higher than T2 (78.57%). An increase in plasma concentration of inositol was observed: T1 (171.00  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ) and T5 (277.07  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ). There were no significant differences in the other variables. T5 presented a higher Benefit / Cost compared to T1, showing a difference of 0.62%. The use of phytase superdose is economically viable; It also has a positive influence on blood variables.

## **KEYWORDS:**

- **PHYTASE**
- **INOSITOL**
- **ASCYTIC SYNDROME**

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

El ácido fítico (AF) es normalmente denominado ácido hexafosfórico mio-inositol o científicamente 1,2,3,4,5,6 hexaquis (dihidrogeno fosfato) mio-inositol (Silva & Da Silva, 1999), constituye la principal forma de almacenamiento de fósforo (P) y otros minerales en semillas de cereales y leguminosas (Domínguez, Gómez, & León, 2002); sus concentraciones oscilan entre 7 a 8 g / Kg y en el maíz a razón 50 a 60 g / Kg, al igual que en los subproductos de los cereales (Eeckhout & De Paepe , 1994). El AF tiene carga negativa a pH ácido, neutro y básico, por lo tanto, puede unirse positivamente a moléculas cargadas en la dieta y en las secreciones del tracto gastrointestinal tales como enzimas digestivas y mucinas en todas las condiciones de pH, reduciendo así la digestibilidad de los nutrientes e incrementando las pérdidas endógenas de nutrientes (Nyachoti & Woyengo, 2013).

El fitato generalmente presente en alimentos de origen vegetal como un complejo mineral-fitato en el cual el magnesio y el potasio están acoplados al fosfato de inositol IP6 éster (IP6) (Bedford & Partridge, 2010). Además, el fitato es una molécula polianiónica, con una capacidad para quelar nutrientes cargados positivamente, y esta capacidad es probablemente fundamental para sus efectos anti-nutritivos. Se ha descrito con precisión al fitato como "un factor anti-nutricional y un nutriente indigerible" (Bedford & Partridge, 2010).

El fitato y el P ligado al fitato están presentes en todas las dietas avícolas y su disponibilidad parcial ha sido reconocida por mucho tiempo, por lo cual se ha utilizado enzimas para poder liberar este fósforo a partir de la década de los 90. En la actualidad se encuentra bien



documentado la capacidad de dichas enzimas para liberar P ligado a fitato y reducir la excreción de P al medio ambiente (Selle & Ravindran, 2007). La fitasa es un término genérico utilizado para describir una enzima que hidroliza los enlaces fosfo-mono-éster de los ácidos fítico liberando orto fosfatos inorgánicos; comprenden un grupo diverso de enzimas que abarcan una gama de tamaños, estructuras y mecanismos catalíticos (Edwar & Abul , 2003). Basándose en el mecanismo catalítico, las fitasas pueden denominarse fitasas ácidas de histidina, fitasas de hélice  $\beta$ , fitasas de cisteína o fitasas ácidas púrpuras. Dependiendo de su pH óptimo, las fitasas se han dividido en fitasas alcalinas, ácidas y basadas en el carbono en el anillo de mio-inositol de fitato en el que se inicia la desfosforilación en tres tipos a) 3-fitasas (EC 3.1.3.8), b) 6-fitasas (EC 3.1.3.26) y c) 5-fitasas (EC 3.1.3.72) (Greiner & Konietzny, 2006).

Por otro lado, el síndrome ascítico o síndrome de hipertensión pulmonar representa un problema de importancia mundial en la producción de pollo de engorde (Cortés, Estrada, & Ávila, 2006); y se trata de una alteración metabólica producto del mejoramiento genética, cuyo objetivo ha sido obtener mayor contenido cárnico en menor tiempo, lo que ha limitado la capacidad del sistema respiratorio y cardiovascular del organismo para cubrir las necesidades para el crecimiento de sus tejidos (Arce, Gutiérrez, Avila, & López, 2002), de este modo, los pollos que no logran oxigenar adecuadamente a sus tejidos, aumentan su presión pulmonar debido a la hipoxia generada, con lo que se produce falla ventricular derecha y acumulación de fluido corporal a nivel de la cavidad abdominal (Cortés, Estrada, & Ávila, 2006), en este sentido, la cantidad de oxígeno disponible es un factor importante y por lo tanto, la incidencia de este síndrome en zonas Interandinas es mayor debido a que la presión parcial del oxígeno es menor en comparación a zonas a nivel del mar (Paredes, 2010).

Los eritrocitos en los vertebrados contienen altos niveles de fosfatos orgánicos; en las aves se encuentra presente el inositol hexafosfato (IP6) y el inositol pentafofosfato (IP5) que suele unirse a las cadenas  $\beta$  del tetrámero de hemoglobina, lo que provoca la reducción de la afinidad del oxígeno con la hemoglobina (Villar, Puigbò, & Riera, 2003). Por esto, el uso de superdosis de fitasas representa un medio para reducir el síndrome ascítico en zonas interandinas, ya que esta enzima actúa hidrolizando el inositol (IP6 e IP5) a mio-inositóles inferiores por medio de una secuencia de reacciones de fosforilación liberando fósforo inorgánico (Selle & Ravindran, Microbial phytase in poultry nutrition, 2007); esto aumentaría la afinidad del oxígeno con la hemoglobina, además, se incrementaría la solubilidad del ácido fítico (IP6) y sus diferentes ésteres, lo cual aumentará la digestibilidad de sus nutrientes, especialmente del P (Leslie, 2006).

## **1.1.Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo General**

Evaluar el uso de superdosis de fitasa (RONOZYME HiPhos®) (0, 1000, 2000 y 3000 FYT/Kg) mediante pruebas de desempeño y análisis sanguíneos para determinar su efecto sobre parámetros zootécnicos, niveles de mioinositol plasmático y oxígeno en sangre de pollos de engorde.

### **1.1.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar parámetros productivos (consumo de alimento, peso corporal, conversión alimenticia, ganancia diaria de peso y mortalidad general) bajo los diferentes tratamientos.
- Determinar los niveles de mioinositol en plasma sanguíneo, ceniza en tibias y oxígeno sanguíneo mediante oximetría bajo los diferentes tratamientos.
- Analizar el beneficio/costo del tratamiento más eficiente.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Producción avícola a nivel mundial

La carne de pollo es la segunda en consumo a nivel mundial con el 45%. Su corto ciclo de producción permite a los productores responder con rapidez a las señales del mercado. La producción se expandirá con rapidez en los países que producen excedentes de cereales forrajeros, como Brasil, México, la Federación de Rusia, Ucrania, Estados Unidos y la Unión Europea. También hay una rápida expansión en Asia, encabezada por China y la India (FAO, 2018).

Nutricionalmente es la carne con menor carga calórica, grasas y colesterol, además de que tiene un gran aporte de proteínas y mayor contenido de ácido fólico y vitaminas B3 Y B6. Es un alimento esencial en dietas blandas y en dietas para combatir el colesterol, la hipertensión o la obesidad, ya que posee varios beneficios para la salud, y es de fácil masticación y digestibilidad. Por esto, su consumo es recomendado especialmente para niños, embarazadas y ancianos (González, 2013).

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Usda) pronosticó que la producción mundial en carne de pollo crecerá 1 por ciento en 2018, alcanzando 91.3 millones de toneladas con ganancias principalmente para Estados Unidos, Brasil, India y la Unión Europea, en el boletín oficial del Usda recalcó que el crecimiento de la producción de pollo en EEUU y Brasil se verá impulsada por el aumento de las exportaciones, mientras que en la UE e India se deberá a

un crecimiento lento pero constante en la demanda interna. Y precisamente, el aumento proyectado en las exportaciones tendrá como mayor motivación la presencia de la influenza aviar altamente patógena (HPAI) en el principal mercado China (Barajas, 2018).

## **2.2. Producción avícola en el Ecuador**

En Ecuador, el consumo per cápita de carne de pollo ha tenido un notable crecimiento es así que en los años 90 se estimó un consumo *per cápita* anual de 7 Kg (Orellana, 2013), mientras que en el año 2013 el consumo ascendió a 35 Kg, lo que corresponde a 230 millones pollos de engorde, abasteciendo de esta manera al 100% de la demanda de carne de pollo (CONAVE, 2013). Este crecimiento corresponde a un aumento del 400% del consumo en 23 años, el aumento en este consumo *per cápita* de pollo demuestra la contribución del sector avícola en la seguridad alimentaria por medio del aprovisionamiento de proteína animal de bajo costo, consumida por la mayor parte de la población ecuatoriana independientemente de su nivel de ingresos.

En el país, la producción avícola se lleva a cabo en dos realidades distintas, el 17,57% (2,62 millones de aves) se la realiza en el campo o como se denomina aves de traspatio y de las cuales el 80,44% se destina al autoconsumo y solo el 19,56 % se destina para la venta mientras que el 82,43% restante (12,28 millones de aves) son criados en planteles avícolas; de ello las región de mayor producción es la sierra con el 58,21%, seguido de costa con el 30,32% oriente con el 11,17% y regiones no delimitadas con el 0,3% (INEC, 2015).

## **2.3. Problemas en la producción en zonas andinas**

Desde sus inicios el crecimiento de la industria avícola se ha ido desarrollando en la cercanía de los mercados consumidores de los grandes núcleos de población ya que se considera como una

fuentes de proteína económica, es por esto que se encuentran producciones avícolas cerca de ciudades, incluso de aquellas localizadas a gran altitud sobre el nivel del mar como es el caso de la capital del país Quito (2800 m.s.n.m.) y en las cuales desarrollar producción avícola genera verdaderos retos para los productores.

Dentro del contexto nacional en el que nos encontramos tendríamos que hacer referencia al efecto que hace el producir en zonas altas del Ecuador con los siguientes antecedentes:

Las altitudes mayores 900 m.s.n.m. son insatisfactorias para los pollos de carne, por lo que el crecimiento, densidad poblacional y disponibilidad del alimento deben ser ralentizados para reducir el requerimiento de oxígeno metabólico de las aves para prevenir la mortalidad por ascitis causada por el síndrome de hipertensión pulmonar; además requieren más precaución en el manejo ambiental para evitar el enfriamiento en altitudes más altas (Hargis, 2016).

El síndrome ascítico en altitudes elevadas (mayor a 1300 m.s.n.m.) continua siendo un problema serio dentro de la producción avícola, ya que el mejoramiento genético ha incrementado la ganancia diaria de peso y la deposición de tejido muscular, lo que determina una mayor tasa metabólica y un mayor requerimiento de oxígeno tisular para la oxidación de los nutrientes (Scheele, De Wit, Frankenhuis, & Vereijken, 1991).

La biodisponibilidad de oxígeno presente en el aire varía en relación a la altura en donde se realiza la producción avícola, esto puede tener repercusiones sobre la misma es así que aves de 0 a 14 días expuestas a una concentración de 12% de oxígeno que sería relacionable a 3500 m.s.n.m. presentan peso vivo, ganancias de peso, consumo de alimento y relación ganancia / alimentación (138 g; 92 g, 205g y 0,46 respectivamente) muy por debajo de aves expuestas a una

concentración de 20,6% de oxígeno que sería relacionable a 0 m.s.n.m. que presentan peso vivo, ganancias de peso, consumo de alimento y relación ganancia / alimentación (371 g; 329 g, 384 g y 0,86) respectivamente, lo que demuestra que una biodisponibilidad baja de oxígeno medioambiental redujo gravemente la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia de los pollos de engorde, presumiblemente debido al oxígeno inadecuado para soportar la eficiencia metabólica normal y reducir el consumo de alimento. La concentración de oxígeno a la cual se empiezan a encontrar hallazgos de presencia de ascitis es de 19,6%, por tanto, es importante mantener la concentración de oxígeno por encima del 19,6% para minimizar la incidencia de ascitis en los planteles avícolas (Beker, Vanhooser, Swarzlander, & Teeter, 2003).

El síndrome ascítico genera grandes pérdidas económicas en la industria de la carne de pollo; en el caso de la línea genética Cobb 500 criados bajo condiciones de hipoxia hipobárica (2.638 m.s.n.m.) y temperatura controlada, tuvieron una disminución notable de peso corporal en comparación con los animales criados bajo normoxia relativa (310 m.s.n.m.) (Monroy & Hernández, 2013).

### **2.3.1. Síndrome ascítico**

Las líneas modernas de pollos de engorde son capaces de alcanzar el peso de mercado en un 60% menos de tiempo que aquellos de hace 40 años; mientras que, su corazón y pulmones tienden a ser significativamente más ligeros proporcionalmente en comparación a las líneas genéticas actuales en las diferentes edades de sacrificio (Baghbanzadeh & Decuypere, 2008).

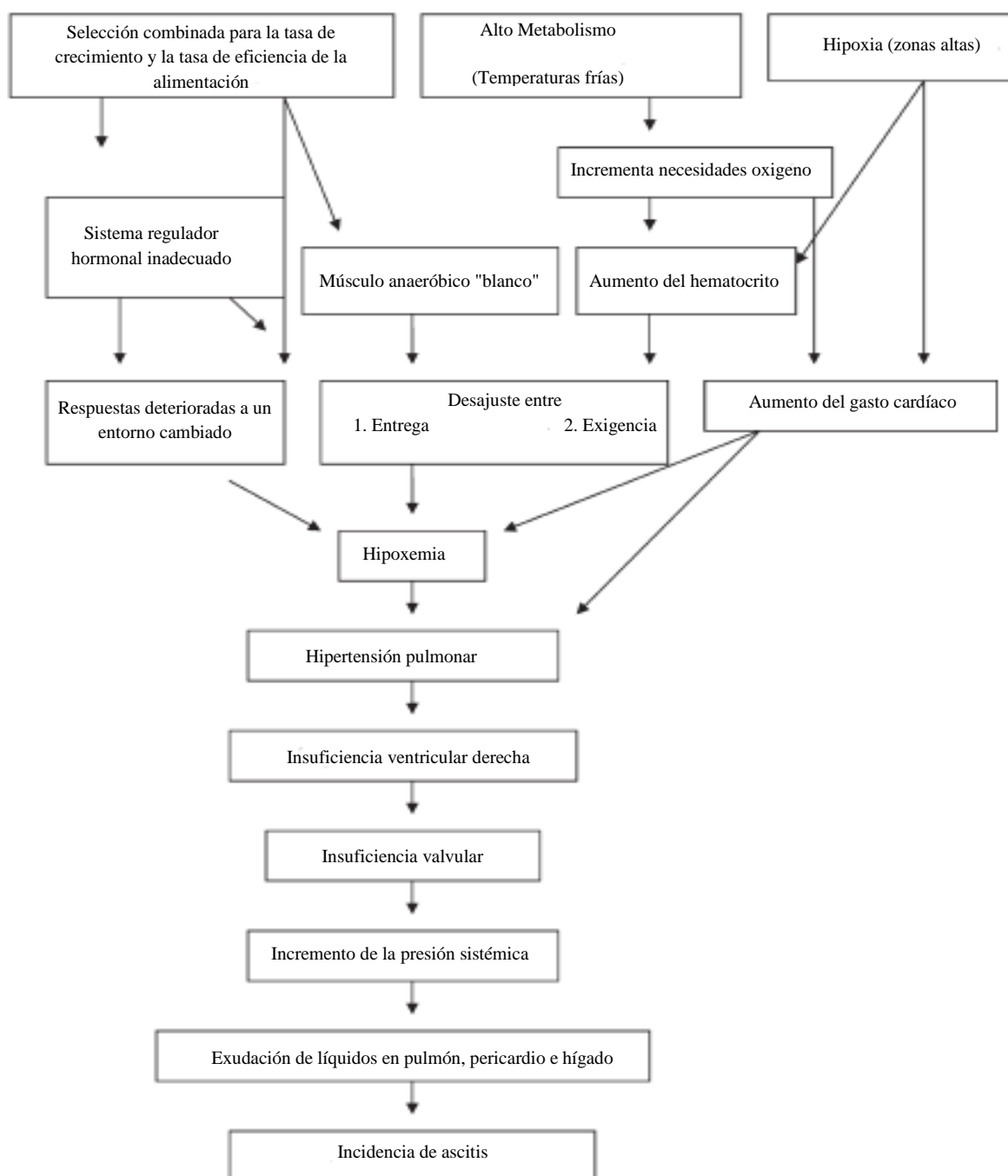
La selección en pollos de crecimiento rápido como un programa de mejoramiento genético acompañado de una mejora nutricional continua en su eficiencia de alimentación han dado como

resultado los pollos de engorde modernos los cuales son susceptibles al síndrome ascítico, (Hassanzadeh, Buyse, Toloei, & Decuypere, 2014). Este rápido crecimiento provoca un trastorno metabólico el cual produce una inadecuada capacidad vascular pulmonar y resulta en insuficiencia ventricular derecha, en la mayoría de los casos este síndrome es causado por un desbalance entre la necesidad de oxígeno y la capacidad cardiovascular para suministrar oxígeno lo que produce escasez de oxígeno que a su vez ejerce presión sobre el sistema vascular pulmonar y puede conducir a una deficiencia de oxígeno en los tejidos, lo que aumentará la presión arterial pulmonar. La presión arterial alta y alta carga de trabajo del corazón desencadenan la acumulación de líquido en la cavidad abdominal y finalmente la muerte. (Closter , y otros, 2009).

Como se observa en la figura 1. se identifican otros factores además del crecimiento rápido de la genética actual tales como: tóxico ambientales, nutricional, ambiental y de manejo que están directamente relacionados con la aparición de este cuadro. Excesos de sodio en las dietas pueden responsables del apareamiento de ascitis en las primeras semanas de vida de las aves (López, 1994), por su efecto sobre el corazón donde produce hipertrofia ventricular derecha (Julian, 1987). Por otro lado, la presentación del alimento juega un papel muy importante en los parámetros productivos de las aves es así que aves que reciben alimento peletizado o granulado tienen mayores ganancias de peso ( $3,357 \pm 112$  g vs  $2,991 \pm 48$  g) y mejor consumo de alimento ( $6,139 \pm 277$  g vs  $5,361 \pm 77$  g), frente a las aves alimentadas con alimento en harina, pero los pellets determinan una mayor mortalidad por síndrome ascítico ( $42.7 \pm 3.3$  % vs  $8.7 \pm 0.8$  %), lo cual indica que existe una relación entre la presentación del alimento y la incidencia del síndrome ascítico (Cortés, Estrada, & Ávila, 2006)

La densidad nutricional y el sexo de las aves afectan significativamente la incidencia del síndrome ascítico, es así que aves alimentadas con dietas densas en nutrientes presentan mayor mortalidad por síndrome ascítico a razón de 3,82 % para machos y 1,51% para hembras frente a aves alimentadas con una dieta de baja densidad nutricional la cual determina mortalidades de 1,36% y 0,19% para machos y hembras respectivamente (Camacho-Fernandez, López , Ávila , & Arce, 2002). Además, la edad de la reproductora tiene implicaciones en los parámetros productivos de las aves, peso corporal y conversión de alimento así como una disminución en la mortalidad por síndrome ascítico, ya que puede disminuir desde 7,0% de mortalidad cuando la reproductora es de 35 semanas, y a 4,8% cuando la reproductora alcanza las 53 semanas (Arce , Ávila, & López, 2002).





**Figura 1.** Diagrama del desarrollo del síndrome de ascitis en pollos de engorde  
Fuente: (Hassanzadeh, Buyse, Toloei, & Decuyper, 2014).

## **2.4.Respiración en las aves**

Por lo general la palabra respirar, se refiere a la realización de los movimientos ventilatorios (ventilación), sin embargo, el concepto es mucho más amplio y complejo. La respiración celular es la reacción del oxígeno con moléculas orgánicas (Glucosa) para producir energía (ATP), agua y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y así obtener energía para su normal funcionamiento; estos procesos oxidativos ocurren en las mitocondrias y corresponden a la respiración celular o respiración interna (UMAZA, 2017).

En las aves, el ciclo respiratorio se completa en dos fases: en la primera fase, se realiza una inspiración y una expiración; la inspiración consiste en inhalar el aire y llevarlo a los parabronquios primarios, y de allí a los sacos aéreos caudales, mientras que una espiración conduce el aire a los parabronquios pulmonares para el intercambio gaseoso. Luego existe una segunda fase de inspiración que mueve el aire a los sacos aéreos torácicos craneales y al clavicular, terminando con la espiración que conduce este aire a los bronquios medioventrales secundarios, y de allí nuevamente a la tráquea (Sanmiguel & Peñuela, 2012).

Luego del ingreso del aire, el oxígeno ingresa al torrente sanguíneo y su transporte se realiza principalmente a través de la hemoglobina, la cual tiene una concentración variable de acuerdo a la edad y especie de 11-15 %. La unión de  $\text{O}_2$ -Hgb describe una curva sigmoidea que varía de acuerdo a la  $T^\circ$ , pH y concentración de fosfatos. El fosfato más representativo en las aves corresponde a una estructura denominada mioinositol 1, 3, 4, 5, 6 pentafofato, llamada también IPP (UMAZA, 2017).

Los eritrocitos en los vertebrados contienen altos niveles de un gran número de fosfatos orgánicos, principalmente ATP, GTP, pentacisfosfato de inositol (InsP5) y 2,3-P2-glicerato (bifosfoglicerato o BPG) que se unen a las cadenas  $\beta$  del tetrámero de hemoglobina, reduciendo así marcadamente la afinidad del oxígeno con esta. Por lo tanto, el transporte de oxígeno en el torrente sanguíneo cuando existen niveles moderados de fósforo es más eficiente, facilitando su liberación a los tejidos (Schweitzer & Marshall, 2001).

InsP5 es el efector de hemoglobina alternativo al BPG de eritrocitos de mamíferos; los eritrocitos de embriones de aves contienen BPG, que, después del nacimiento, es reemplazado por InsP5 la ventaja funcional de esta molécula en eritrocitos adultos de aves no se conoce. Los fosfatos de inositol menores detectados en las aves fueron los tetrafosfatos Ins (3,4,5,6) P4 e Ins (1,3,4,6) P4, que se cree que son los principales precursores de Ins (1,3,4, 5,6) P5. InsP6, sin embargo, estaba presente en todos los eritrocitos de aves estudiados, pero a una concentración mucho menor que los de Ins (1,3,4,5,6) P5 (aproximadamente 50-60 veces menor) (Isaacks & Harkness, 1980).

Parece, por lo tanto, que esta molécula no induce ningún cambio significativo en la afinidad del oxígeno con la hemoglobina, y podría considerarse una consecuencia de una vía del inositol que está sesgada hacia la síntesis. En cualquier caso, los niveles de este fosfato de inositol son por lo menos dos veces superiores a los de las formas de tetrafosfato detectadas en las aves estudiadas aquí; en el caso del gallo, la forma de hexafosfato estaba presente en cantidades aún mayores (Villar, Puigbò, & Riera, 2003).

Las mediciones indican que el nivel de IP5 aumenta a altitudes moderadas, disminuyendo la afinidad hemoglobina-oxígeno a pH constante. El nivel de IP5 parece estar regulado por el pH de la sangre; por ejemplo, un aumento del pH, causado por la hiperventilación, mejora la síntesis de IP5 y ralentiza su degradación siempre y cuando la estimulación ventilatoria puede elevar la tensión alveolar de oxígeno para mantener la carga del mismo en los pulmones ( Soitamo, Råbergh, Gassmann, Sistonen, & Nikinmaa, 2001).

## **2.5.Ácido fítico**

El ácido fítico o fitato está definido como un compuesto complejo de origen natural proveniente de la maduración de semillas y granos de cereales (Maga, 1982); alrededor del 75% del ácido fítico se asocia con componentes de la fibra soluble presente en semillas (Torres, Rodriguez , & Saura, 1991), en las leguminosas este ácido contiene aproximadamente el 70% de fofato total contenido, conformándose estructuralmente por proteínas y minerales en forma de complejos (Zhou & Erdman, 1995).

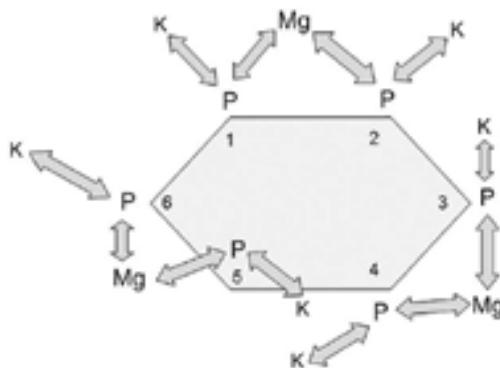
Es comúnmente denominado ácido hexafosfórico de myo-inositol y científicamente se le conoce como 1,2,3,4,5,6 hexakis (dihidrogênio fofato) myo-inositol (International Union of Pure and Applied Chemistry, 1968). Su molécula tiene seis protones firmemente unidos a los pKa inferior a 3,5 seis protones débilmente disociados con pKa de entre 4,6 y 10, características que evocan a este ácido un fuerte potencial de estructura quelante (Erdman, 1979).

Por otra parte, el fitato está invariablemente presente en las dietas elaboradas para cerdos y aves de corral; presente en concentraciones del orden de 10 g \* kg-1, pero las especies monogástricas son capaces de utilizar este componente de forma muy limitada. Por lo tanto, es

necesario complementar sus dietas con fuentes de P inorgánico tales como fosfatos para satisfacer sus requerimientos nutricionales.

Además, el fitato es una molécula polianiónica, con capacidad específicamente destinada para quelar nutrientes cargados positivamente, esta propiedad se constituye fundamental para sugerir efectos anti-nutritivos, es por esta razón que se ha descrito al fitato como "un factor anti-nutricional y un nutriente indigerible" (Swick & Ivey, 1992).

El fitato está generalmente presente en alimentos de origen vegetal como un complejo mineral-fitato en el que el magnesio y el potasio están acoplados al fosfato de inositol IP6 ester. El modelo propuesto por Lott J. , Ockenden, Raboy, & Batten, (2000) está representado en la Fig. 2, donde IP6 está completado con tres iones  $Mg^{2+}$  y seis iones  $K^{+}$  (Bedford & Partridge, 2010)



**Figura 2.** Diagrama esquemático del eje Mg-K-fitato  
Fuente:(Lott J. , Ockenden, Raboy, & Batten, 2000)

Mediante investigaciones y experimentos se ha demostrado que el ácido fítico reduce la digestibilidad mineral aparente en cerdos y pollos de engorde, sin embargo, existen hallazgos que

un aumento del ácido fítico en la dieta no reduce la retención de minerales catiónicos en gallinas de postura alimentadas con dietas en las que el nivel de fósforo no fítico varió de 0,2 a 0,4%.

En cambio, se observó una interacción entre el ácido fítico dietético y el fósforo no fítico de tal manera que la retención de los minerales catiónicos tuvo un progreso significativo con el aumento del nivel de fósforo no fítico en la dieta. De esta manera, el efecto del ácido fítico dietético sobre la retención de los minerales catiónicos por las gallinas ponedoras fue confundido por el fósforo dietético no fítico. La falta de acción del ácido fítico en la retención de los minerales catiónicos podría deberse al hecho de que el aumento del nivel de este ácido en la dieta no fue lo suficiente alto como para incidir en la retención de minerales por parte de las gallinas ponedoras (Ceylan, Scheidler, & Stilborn, 2003).

El ácido fítico reactivo se degrada rápidamente a ésteres inferiores inofensivos en el tracto gastrointestinal proximal en los monogástricos, por lo tanto, el prototipo nutricional ha cambiado de formular dietas para anexar la presencia de fitasa a formular dietas para acomodar la ausencia de ácido fítico. Estas son diferencias banales, pero pueden intervenir considerablemente en el rendimiento animal y el equilibrio óptimo de nutrientes en la dieta (Cowieson, Ruckebush, Knap, & Guggenbuhl, 2015).

La forma dietética de este ácido (ácido fítico libre versus sal de fitato) puede influir en el efecto que tiene sobre la utilización de nutrientes, esta influencia puede ocurrir sólo en aves de corral (y no en cerdos) debido implícitamente a las siguientes tres razones (Woyengo & Nyachoti, 2013).

- 1) El ácido fítico y los minerales catiónicos se disocian por acción del pH ácido encontrado en el estómago ya que; estos elementos son solubles para condiciones con este pH

(Maenz, 2001). Por lo tanto, la forma en que el ácido fítico ejerce sus acciones en el estómago no se relaciona con la forma original (ácido fítico libre vs sal de fitato) en la que es suministrado para la alimentación.

- 2) Cuando se tienen condiciones de pH intestinal bajo, el ácido fítico reacciona con minerales catiónicos libres para formar fitato. El principal mineral catiónico en las dietas prácticas es el calcio. Por lo tanto, el ácido fítico es probable que compleja más calcio que otros cationes, independientemente de su forma original en la dieta.
- 3) El pH en el cultivo de aves de corral no es lo suficientemente ácido como para causar la disociación entre el ácido fítico y los minerales catiónicos y, por lo tanto, el ácido fítico puede ejercer sus efectos en el cultivo en una forma similar a la que se suministra en el cultivo, lo que resulta en una influencia global de la forma dietética del ácido fítico en respuesta a su ingestión. Sin embargo, existe la necesidad de investigar el efecto de la forma del ácido fítico sobre la utilización de nutrientes en aves y cerdos con el propósito de probar esta hipótesis (Woyengo & Nyachoti, 2012).

Es fundamental determinar la concentración de fitato en los cereales ya que constituyen la materia prima para la elaboración de alimentos balanceados utilizados en la industria avícola, este no es un procedimiento sencillo (Lasztity & Lasztity, 1990), en algunos casos las concentraciones de fitato es determinado por métodos cuya premisa es la precipitación de cloruro férrico (Heubner & Stadler, 1914); el fitato se precipita por acción del cloruro férrico ( $\text{Fe}_3\text{Cl}_2$ ) y por consiguiente se determina la concentración de P y Fe en el precipitado, a partir de lo anterior se calcula la concentración del fitato-P. Este método es satisfactorio para la determinación de fitato en alimentos individuales, pero no existe diferencia entre diversos componentes tales como

ésteres de fosfato presentes, por eso es importante recalcar que este método es insatisfactorio para muestras complejas debido a la co-precipitación de P proveniente de otras fuentes (Young & Greaves, 1940).

La mayoría de métodos de determinación de fitato no tienen la capacidad de identificar la gran variedad de ésteres fosfato de mio-inositol, sin embargo, estos elementos pueden ser determinados por el uso de cromatografía líquida, cromatografía de intercambio aniónico y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (Selle & Ravindran, 2006)

## **2.6.Enzimas a nivel nutricional**

Las enzimas son proteínas producidas al interior de organismos vivos y se especializan en favorecer y permitir que se realicen reacciones específicas en el metabolismo (Granda, 2012). Estas proteínas han sido utilizadas desde hace años para procesos de fermentación, por ejemplo, la fabricación de quesos, pan, vino y cerveza; en 1860, Luis Pasteur comunicó que los fermentos estaban íntimamente ligados con la estructura vital de las células de la levadura y en 1876, Willian Kuhne les propuso el nombre de enzima, término que deriva de las palabras griegas *en* (en) y *zyme* (levadura) (Acosta & Cárdenas, 2006).

El rendimiento de los animales depende en gran parte de la digestibilidad de los nutrientes contenidos en los alimentos y el grado en que estos nutrientes pueden ser absorbidos y utilizados posteriormente; en este sentido normalmente todos los animales utilizan enzimas endógenas para digerir el alimento (Danisco Animal Nutrition , 2014). Las enzimas pueden ser producidas por el animal o por los microbios naturalmente presentes en el intestino, sin embargo, el proceso digestivo del animal no es 100% eficiente. Las aves de corral no pueden digerir 15 a 25% del



alimento que ingieren debido a los factores nutricionales no digeribles presentes en algunos ingredientes de las dietas, interfiriendo de esta manera con los procesos digestivos. (Michael & Gary , 2010).

La aplicación inicial de enzimas exógenas de forma comercial en la industria avícola, como una nueva clase de aditivos, se inició a fines de los años 80's y su uso exitoso fue después de 1992 (Nagashiro, 2007). A inicios de los años 90's, la aplicación de enzimas microbianas se extendió al uso de fitasas, principalmente en respuesta a una alta preocupación de la polución del medio ambiente por el P de las excretas animales; y luego de demostrar la eficacia de varias fitasas para degradar en diferentes proporciones el fósforo fítico de los ingredientes vegetales (Selle & Ravidran, 2007).

La alimentación representa un alto porcentaje del costo de producción en la crianza de aves de corral y la rentabilidad puede verse disminuida dependiendo del costo de los ingredientes y de su valor nutricional; si los alimentos no son totalmente digeridos puede ocasionar un costo adicional a los productores, es por lo que en la actualidad el uso de enzimas exógenas es indispensable, ya que incrementa la eficacia de digestión de los alimentos, siendo las enzimas más utilizadas en la nutrición animal aquellas que descomponen la fibra, proteínas, almidón y fitato.

Las carbohidrasas descomponen los carbohidratos en azúcares más simples, en nutrición pueden clasificarse ampliamente en aquéllas que degradan fibra o almidón; por otro parte, las fitasas liberan minerales, proteínas y almidón ligados al fitato, que luego pueden ser digeridos y absorbidos por el animal para mejorar la eficiencia de la producción de carne y huevo (Quiles, 2005)

Actualmente, los fabricantes de enzimas exógenas están promoviendo activamente los beneficios aditivos de combinar enzimas fitasas con carbohidrasas en dietas para reducir aún más los costos de producción de cerdos y aves de corral (Acosta & Cárdenas, 2006). La teoría es que cada tipo de enzima está dirigida a diferentes anti-nutrientes en la dieta, y que, mediante la adición de una combinación de las actividades enzimáticas, se liberará una mayor cantidad de energía, aminoácidos y minerales en comparación con una actividad enzimática de una sola enzima exógena (Michael & Gary, 2010).

La mayoría de las enzimas son producidas por fermentación mediante cultivos industriales de microorganismos, sin embargo, existen enzimas extraídos de tejidos animales o plantas (NutriNews, 2014). Según (Brufau, 2017) el proceso de producción enzimática actual requiere del cumplimiento de los siguientes pasos:

- Selección del enzima
- Selección de la cepa productora
- Construcción de una cepa productora por ingeniería genética
- Optimización del medio de cultivo
- Optimización de los procesos de recuperación y purificación
- Formulación de un producto final estable

En el caso de la alimentación animal, deben de ser termo resistentes para soportar a las condiciones de fabricación de alimentos balanceados y ser de máxima eficacia bajo las condiciones digestivas del animal de destino (Brufau, 2017).

De acuerdo con (Ergomix, 2012) posterior a elegir la enzima que se va a utilizar para la elaboración de la dieta balanceada se tienen dos opciones:

- 1) Reformular el alimento - Para reducir los costos y al menos mantener el crecimiento del animal, la producción de huevos y el índice de conversión. Por ejemplo, reemplazando parte del trigo, cebada o maíz con sub-productos más fibrosos de menor costo y/o reducir el nivel de grasa añadido en la dieta.
- 2) Añadirlo a la formulación estándar - Para mejorar el crecimiento del animal, la producción de huevos y el índice de conversión con menores costos de producción (Danisco Animal Nutrition, Departamento Técnico, 2017).

Es importante la aplicación de un método específico en cada caso, bajo un buen criterio, con una correcta combinación enzimática y una aplicación racional del conjunto de enzimas (Martínez & Sanz, 2017).

### **2.6.1. Fitasas**

Es un término genérico usado para describir una enzima que hidroliza los enlaces fosfomonoéster del ácido fítico, liberando así ortofosfatos inorgánicos (Mullaney & Ullah, The term phytase comprises several different classes of enzymes, 2003). Están presentes de forma natural en numerosos cultivos de bacterias y hongos, además, se encuentran en ciertos granos y pueden llegar al tracto intestinal de todos los animales por la ingestión de plantas que las contienen o por la propia microbiota intestinal que las produce, así como también por la producción enzimática endógena de la mucosa (Acosta & Cárdenas, 2006).

La incorporación de fitasa en la matriz de dietas de aves de corral conduce a cambios significativos en la utilización de calcio y fosfatos dietéticos; mediante la liberación de P y Ca a partir de complejos de fitatos, la fitasa reduce la cantidad de fosfato inorgánico y calcio requerido en la formulación del alimento, que en la mayoría de los casos se proporciona en forma de fosfatos monocálcicos o dicálcicos (Martínez, y otros, 2009). Sin embargo, debido a que la fitasa libera más P que Ca (como proporción del requisito), su aplicación da lugar a la adición de piedra caliza adicional para mantener una proporción aproximadamente 2: 1 Ca: P en la dieta, esto probablemente puede cambiar las propiedades físicas y químicas de la digesta en el tracto gastrointestinal; por ejemplo, el aumento de calcio en la dieta de 1,07 a 2,53% aumentó el pH del buche de 4,89 a 5,32 y en el íleon de 6,62 a 7,39 (Shafey, McDonald, & Dingle, 1991), mientras que en otro estudio demostraron que el aumento de la concentración de Ca de 0,64 a 1,03% elevó el pH en la molleja en 0,15 (Walk, Bedford, & McElroy, 2012).

Un exceso de capacidad tampón puede interferir con la velocidad y el grado de digestión, particularmente durante la fase gástrica, y también puede forzar un compromiso adicional de recursos digestivos (ácido clorhídrico y pepsina) si se desea mantener la digestión; es decir que si se supera la capacidad digestiva gástrica, existe el riesgo de que algunas proteínas puedan resistir la digestión y ser fermentadas en el intestino grueso, lo que puede conducir a un mal desempeño y aumentar el riesgo de enfermedad intestinal (Giannenas, y otros, 2014). Por otra parte, se considera que un pH más bajo en el intestino delgado, debido a su efecto bacteriostático, debe ser positivo para la integridad intestinal y microecología, reduciendo la aparición de enterobacterias que son patógenos potenciales y aumentando las poblaciones benéficas como las bacterias lácticas (Serrano-Ríos, 2005). Por lo tanto, el efecto de la fitasa observado en muchos estudios

podría estar relacionado con una reducción en la capacidad de amortiguación de una dieta con efectos subsiguientes sobre los perfiles de microbiota, sin embargo, en la literatura disponible hay muy pocos datos sobre el efecto directo de la fitasa sobre el estado del microbioma del huésped (Ptak, Bedford, Świątkiewicz, Żyła, & Józefiak, 2015).

Basándose en el mecanismo catalítico, las fitasas pueden denominarse fitasas ácidas de histidina, fitasas de hélice  $\beta$ , fitasas de cisteína o fitasas ácidas púrpuras. Dependiendo de su óptimo de pH, las fitasas se han dividido en fitasas alcalinas y ácidas y basadas en el carbono en el anillo de mio-inositol de fitasa que se inicia la desfosforilación en 3-fitasas (EC 3.1.3.8), 6-fitasas (EC 3.1. 3,26) y 5-fitasas (EC 3.1.3.72) (Greiner & Konietzny, 2006).

#### **2.6.1.1. Fitasas ácidas de histidina**

La mayoría de las fitasas conocidas son HAPs (EC 3.1.3.8), todos los miembros de esta clase comparten un motivo de sitio activo común (RHGXRX<sub>P</sub>) y un mecanismo de dos pasos que hidroliza fosfomonoésteres (Van Ettens, Davidson, Stevis, MacArthur, & Moore, 1991) . Sin embargo, no todos los HAPs son catalíticamente activos como fitasas, ya que investigaciones recientes han establecido un papel vital para el sitio de enzima de especificidad de sustrato (SSS), incluso entre las fitasas HAP conocidas, la actividad específica para el ácido fítico varía mucho; por ejemplo, compararon las propiedades catalíticas de varias fitasas fúngicas proponiendo dos clases de fitasas HAP. Una clase tiene una amplia especificidad de sustrato, pero una menor actividad específica para el ácido fítico y la segunda clase tienen una estrecha especificidad de sustrato, pero una alta actividad específica para el fitato (Wyss, y otros, 1999).

En la actualidad la mayoría de las fitasas que se usan como suplementos alimenticios pertenecen a la clase de las fitasas ácidas de histidina. Es por esto que se espera que actúen de manera más eficiente en las condiciones presentes en el estómago animal ya que este es el principal sitio funcional (Bedford & Partridge, 2010).

Una fitasa que se encuentra activa en el intestino delgado requiere una estabilidad suficientemente alta bajo las condiciones de pH en el estómago y el intestino, así como una alta resistencia a las actividades proteolíticas, principalmente de la pepsina en el estómago y las proteasas pancreáticas en el intestino delgado (Selle & Ravindran, 2007).

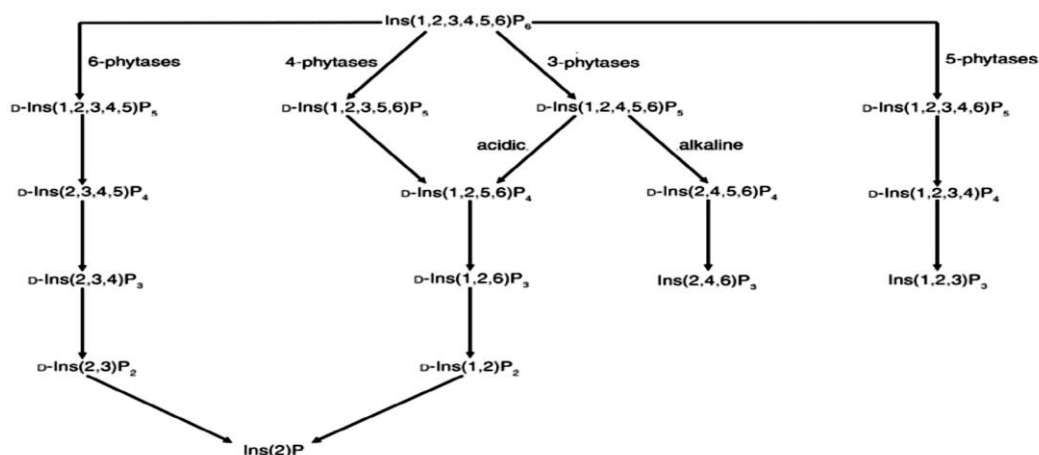
#### **2.6.1.2.Fitasas de hélice B**

Son una clase de enzimas recientemente descubiertas con un nuevo mecanismo para hidrolizar su sustrato. BPPs han sido aislados y sus genes clonados del *Bacillus subtilis* (phyC) y *Bacillus amyloliquefaciens* (TS-Phy), no hay ninguna otra fosfatasa conocida con este tipo de estructura. La dependencia de la unión de  $\text{Ca}^{2+}$  para la termo estabilidad y la actividad catalítica distingue aún más phyC de otras subclases de fitasas. La BPP tiene dos fosfatos sitios de unión y la hidrólisis de su sustrato se produce en el "sitio de escisión" y el "sitio de afinidad" adyacente que aumenta la afinidad de unión para sustratos como ácido fítico que presentan grupos fosfato vecinos, además los iones de calcio facilitan la unión creando un ambiente electrostático favorable (Chul Oh, y otros, 2001).

### 2.6.1.3. Fitasa ácida púrpura GmPhy-soja (*Glycine max* L. Merr.)

GmPhy (EC 3.1.3.2), se ha aislado recientemente de los cotiledones de la soja en germinación y tiene el sitio activo de una fosfatasa ácida púrpura (PAP). Esta clase de metaloenzima ha sido ampliamente estudiada, tanto su estructura tridimensional y un mecanismo propuesto de la catálisis son conocidos. Las búsquedas de bases de datos genómicas han revelado PAP-como secuencias en plantas, mamíferos, hongos y bacterias (Mullaney & Ullah, The term phytase comprises several different classes of enzymes, 2003).

Por último, pero no menos importante, se sugirió que las fitasas con distinto sitio de iniciación pueden mostrar diferencias en la bioeficiencia; hoy, tres clases de fitasas son reconocidas por la Unión Internacional de Puras y Aplicadas Química y la Unión Internacional de Bioquímica (IUPAC-IUB): 1) 3-fitasa (EC 3.1.3.8) elimina inicialmente el residuo de fosfato de la posición D-3 de; 2) 6-fitasa (EC 3.1.3.26) inicia preferentemente el fitato desfosforilación en la posición L-6 (D-4); y 3) 5 fitasa (EC 3.1.3.72) en la posición 5 en el anillo de mio – inositol.



**Figura 3.** Principales vías de degradación de fitatos para las cuatro clases de fitasa

Fuente: (Bedford & Partridge, 2010)

La actividad de fitasa es definida como unidades de fitasa (FTU), donde un FTU es la cantidad de enzima que libera 1 mol de ortofosfato inorgánico por minuto desde 0.0051 mol  $\cdot$  l<sup>-1</sup> de fitato de sodio a un pH de 5.5 y una temperatura de 37° C; esta definición provee una útil medida de cantidad de actividad de la fitasa y representa una simple medición de la marca de referencia en condiciones de ensayo bien definidas (Bedford & Partridge, 2010). Otras abreviaturas como FYT y PU han sido usadas para denominar a la actividad de la fitasa de varias fitasas microbianas comerciales, sin embargo, estas actividades están presentes para ser comparadas en condiciones *in vitro* razonablemente similares (Selle & Ravindran, 2007).

#### **2.6.1.4. RONOZYME HiPhos**

Ronozyme® HiPhos es una 6-fitasa de origen microbiano registrada en la Unión Europea con el N° 4a18, es un producto fabricado por la empresa DSM y está dirigido a aves de carne, de puesta, lechones, cerdos de engorde y cerdas. Es un preparado de 6-fitasa producido por *Aspergillus oryzae*; el mismo que es un hongo filamentoso, que tiene una capacidad para secretar grandes cantidades de enzimas hidrolíticas. Contienen diferentes perfiles proteicos incluyendo proteasa neutra y alcalina, amilasa, glutaminasa y metalopeptidasa (Liang, Pan, & Lin, 2009) además, *Aspergillus oryzae* es genómicamente bien caracterizado y considerado como un organismo seguro para producción de enzimas alimentarias porque carece de secuencia de los genes responsables de la aflatoxina (Chuenjit, Pao-Chuan, & Shyang-Chwen, 2012).

Las fitasas microbianas se pueden obtener a partir de numerosas bacterias, levaduras y hongos; siendo esta última fuente, la más importante, esencialmente se producen a partir del género *Aspergillus* (Stahl, Roneker, Pond, & Lei, 2004). En la actualidad la mayoría de fitasas de uso



comercial (Natuphos, Novo phytase y Finase) son producidas por *Aspergillus ficuum*, *A. niger* o *A. oryzae*, mediante modificación genética, lo que permite una superproducción de la cepa en comparación con su crecimiento en estado natural, estas tres especies son ampliamente utilizadas para producir enzimas porque no elaboran toxinas como las aflatoxinas que tienen carácter teratogénico, de esta manera se obtuvo un fitasa proveniente de *Aspergillus oryzae*, capaz de tolerar una temperatura de 90° C, en contraste otra fitasa comercial (Alltech phytase) es obtenida sin modificación genética (Quiles, Papel de las fitasas en la alimentacion porcina).

La 6-fitasa (EC 3.1.3.26) inicia con la desfosforilación del fitato L-6 (D-4), hasta la actualidad ha sido utilizada en los estudios de alimentación animal sin embargo, no muestran claramente que las diferencias marcadas en cuanto a bioeficiencia, pero se relacionan con el lugar de iniciación de la desfosforilación del fitato, específicamente porque las fitasas que sirven como suplemento, difieren en propiedades tales como la actividad enzimática que está influenciada de forma directa por el pH, la estabilidad del pH y la transigencia a la pepsina. Se considera que esta fitasa es una característica presente en las plantas superiores, además que gran parte de estudios enfocados hacia la fitasa están específicamente relacionados con la degradación del fitato (Bedford & Partridge, Enzymes in Farm animal Nutrition, 2010).

Es de relevancia indicar que las 6-fitasas presentes en las semillas hidrolizan inicialmente residuo de fosfato L-6 (D-4) del fitato (Greiner R. , 2002), mientras que 6-fitasas microbianas inicialmente eliminan el residuo de fosfato unido a la posición D-6 (L-4) (Lassen, y otros, 2001).

Por otra parte, las fitasas microbianas mejoran la digestibilidad del P y Ca, aumentando el rendimiento de aves y cerdos; presenta otras propiedades de efecto extra fosfórico como el

aumento de la densidad de mioinositol en el plasma (Martinez & Sanz, 2013). Además, aumenta la disponibilidad de otros nutrientes provenientes de los cereales utilizados como materia prima y sus subproductos, reduciendo la adición de fosfatos inorgánicos, en consecuencia, disminuyendo el impacto medioambiental (DSM ).

En la actualidad se han realizado estudios previos referentes a Ronozyme® HiPhos, para evidenciar la importancia del mioinositol en avicultura como respuesta a la fitasa, se llevaron a cabo dos estudios en DSM para examinar los efectos de Ronozyme® Hiphos Gt (una fitasa comercial disponible) sobre las concentraciones plasmáticas de mioinositol (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, & Fru-Nji, 2014).

Investigaciones como las realizadas por DSM, han aportado con relevantes ideas relacionadas con la eficiencia de la fitasa de origen microbiano en el aumento de la asimilación del calcio y fósforo con la mejora en el rendimiento de producción en las aves alimentadas con dietas escasas en estos minerales, existen evidencias de tipo científico que se enfocan hacia confirmar la importancia del mioinositol como impulsor de crecimiento. Mientras tanto, las fitasas son consideradas un artefacto indispensable para la reducción de los efectos anti nutricionales del fitato y la retención del fósforo (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, & Fru-Nji, 2014).

## **2.7. Aplicación de superdosis de fitasas**

En general, “superdosis” se puede definir como la adición de tres o cuatro veces la dosis estándar de fitasa para destruir con rapidez todo el fitato presente en la dieta (Graham & Cordero, 2016). Los ensayos tempranos de fitasa en monogástricos (1960s / 70s) usaron preparaciones de fitasa bastante crudas, a menudo de varias especies de *Aspergillus* y las unidades de actividad no

siempre fueron revelados. Sin embargo, basándose en una extensa revisión de la literatura, el informe más temprano de la "superdosificación" puede ser Nelson *et al.* (1971) donde se utilizaron 1 - 8 g de una fitasa de *Aspergillus ficuum* con 950 FTU / g por kg de dieta en un experimento de pollos de engorde. Estas dosis añadirían entre 950 y 7,600 FTU / kg de alimento. Nelson y sus colegas encontraron que la desaparición aparente de fitato-P aumentó de 38,9% con 950 FTU / kg a 94,4% con 7.600 FTU / kg. La respuesta a la fitasa durante 21 días aumentó el peso y las cenizas óseas tuvieron un comportamiento log-lineal, pero maximizada a 7,600 FTU / kg, donde el peso y las cenizas óseas se incrementaron en 131% y 59%, respectivamente, comparado con el control sin fitasa. El estudio de Nelson alteró el equilibrio anión catión-anión de una dieta de pollo de maíz-soja con P como fosfato mono-dicálcico y Ca como caliza. Informaron que los incrementos netos en los niveles de cationes fueron negativamente correlacionados con Energía Metabolizable Aparente corregida con nitrógeno (EMAn) ( $r = -0,72$ ;  $P < 0,01$ ) y con la digestibilidad de 17 aminoácidos ( $r = -0,79$ ,  $P < 0,01$ ). La fitasa microbiana induce la liberación de P y Ca con el potencial de impacto en el equilibrio anión catión efectivo, liberando una mayor cantidad de Ca que de P, esto generaría un aumento neto en los niveles catiónicos de la dieta, lo que sería perjudicial sobre la base de Nelson *et al.* (1980). Este punto se hace porque, fundamentalmente, el mayor impacto después de la inclusión dietética de fitasa está en la disponibilidad de P y Ca.

Tras el trabajo pionero de Nelson y sus colegas, hubo un notable retraso en el interés por la fitasa hasta finales de los años ochenta en lugar de la comercialización de la fitasa como aditivo en la alimentación en 1991. Más recientemente, como la fitasa ha gozado de estatus e interés en

las dietas avícolas en general, la superdosificación ha ganado interés por parte de los investigadores (Cowieson & Bedford, 2011).

Las fitasas se han utilizado tradicionalmente para reducir los costes de la dieta sustituyendo las fuentes de fosfatos inorgánicos, pero también se han aplicado puntualmente para sustituir las fuentes de energía como las grasas animales o vegetales, así como para permitir la reducción de carbonato, aminoácidos sintéticos y sal en las dietas (Selle & Ravindran, Microbial phytase in poultry nutrition, 2007).

Como todas las enzimas, los efectos de la dosificación de las fitasas siguen una curva de respuesta lineal logarítmica, por tanto al duplicar una dosis estándar resultaría en un incremento de la eficacia de solamente alrededor de un 30% y doblando la dosis una segunda vez proporcionaría un incremento adicional de solamente un 18% (Bedford & Partridge, 2010). Esta respuesta logarítmica lineal, por lo tanto, hace difícil justificar dosis muy altas no convencionales y en teoría el retorno de la inversión debería disminuir con cada unidad de actividad añadida; sin embargo, como el valor creado por las fitasas va más allá de los beneficios obtenidos por la liberación de nutrientes, estas aproximaciones no tienen en cuenta todo el impacto de la suplementación con fitasas. Por lo tanto, el interés de las investigaciones empezó a alejarse de la liberación del fósforo y la reducción de los factores anti nutricionales, para centrarse más en el papel del mioinositol (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, & Fru-Nji, 2014).

Wyss, y otros, (1999), presentaron datos sobre el efecto de diversas fitasas sobre la desfosforilación de fitato *in vitro* y demostraron que las fitasas exógenas son en gran medida inactivas para catalizar la hidrólisis completa del fitato en mio-inositol y fosfato libre y tienden a

"agrupar" IP3 y / o IP4 en favor de la hidrólisis de IP6 e IP5. La razón por la que incluso las dosis superiores de fitasas comerciales estándar son incapaces de desfosforilar completamente IP6 a mio-inositol y fosfato libre, es que el IP6 contiene un grupo de fosfato alineado axialmente recalcitrante sobre carbono 2 en el anillo de mio-inositol que es incompatible con la mayoría de las fitasas exógenas comercialmente disponibles (Menezes, Gabler, & Greiner, 2015).

La acción simultánea de una 3 - y una 6 - fitasa (categorizada por el sitio de la hidrólisis inicial el anillo de mio-inositol) generan ésteres inferiores de fosfato de inositol que tienen diferentes efectos fisiológicos en aves de corral que combinaciones de dos diferentes 6- Fitasas. Esto plantea la fascinante posibilidad de que, si bien la eliminación completa y rápida de IP6 e IP5 es probable que sea de importancia central, los isómeros creados durante la eliminación escalonada de otros grupos fosfato pueden ser igualmente y fisiológicamente importantes. Una visión panóptica de la nutrición libre de fitatos debe considerar no sólo la velocidad y la integridad de la hidrólisis de IP6, IP5 e IP4 sino también los isómeros intermedios generados y sus efectos antagonistas o beneficiosos sobre la fisiología del animal o la solubilidad de los nutrientes en el lumen (Cowieson, Ruckebush, Knap, & Guggenbuhl, 2015).

Con motivo de la degradación completa del fitato soluble de la dieta, la aplicación de “superdosis” con una fitasa adecuada elimina eficazmente sus efectos anti-nutricionales, produciendo beneficios “extra-fosfóricos”, es decir, más allá de la simple liberación de P. Estos beneficios incluyen el aumento del consumo de alimento, la mejora de la digestibilidad de nutrientes, la liberación extra de minerales y la reducción de los costes de la energía para la digestión (Bedford & Partridge, 2010).

En la práctica, de acuerdo a (aviNews, 2016) el uso de altas dosis de fitasa puede aumentar la rentabilidad a través de dos vías principales:

- 1) Mantener los ahorros habituales de formulación asociados a la liberación de 0,15% de P disponible (AvP) con 500 FTU/kg de fitasa.
- 2) La mejora significativa en el rendimiento de las aves debido a los efectos extra-fosfóricos de la “superdosing” con fitasa.

Se ha observado que el mioinositol 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, esto implica que podría regular el transporte de la glucosa, la gluconeogénesis y la deposición de proteína en mamíferos (DSM, 2018). Sin embargo, este transportador primario se encuentra ausente en aves, lo cual significa que este efecto de imitación, debería limitarse a los cerdos y otros mamíferos. Por otro lado los pollos presentan sensibilidad a la insulina y es posible que existan transportadores alternativos de glucosa que estén involucrados en estos efectos (Sweazea & Braun, 2006). Puesto que la fitasa aumenta el mioinositol en el plasma de los pollos, es posible que este efecto se parezca en gran medida al de la insulina, probablemente por la estimulación de vías que reducen los niveles de esta y el iGF-1, como la fosfatidilinositol-3-quinasa, aKt y mTOR (vías responsables por el depósito de proteína). Esto podría explicar que la adición de fitasas, especialmente en altas concentraciones de inclusión, tiene efectos positivos sobre importantes parámetros en la producción como la ganancia de peso y la conversión alimentaria, que se encuentran ligados a los efectos de la digestibilidad de nutrientes (DSM, 2018).

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Ubicación del experimento

Galpón Experimental Tumbaco

Provincia:	Pichincha
Cantón:	Quito
Parroquia:	Tumbaco
Altitud:	2500 m.s.n.m.
Latitud:	0°14'27"
Longitud:	78°21'57"
Temperatura Media:	15,65 °C

#### 3.2. Factores en estudio

Los factores en estudio corresponden a los cinco tratamientos.

#### 3.3.Tratamientos

- 1) Tratamiento 1 (Control Positivo). Alimento que cumple con todos los requerimientos de fósforo y calcio y sin el uso de fitasa.
- 2) Tratamiento 2 (Control Negativo). Alimento sin el uso de fitasa con aportes menores de Ca y P equivalentes al aporte teórico de la dosis estándar de la fitasa (1000 FYT/Kg).
- 3) Tratamiento 3. Alimento con dosis normal de fitasa y teniendo en cuenta su matriz nutricional (1000 FYT/Kg de alimento que corresponden a 150 g de Fitasa comercial/TM de alimento)

- 4) Tratamiento 4. Alimento con superdosis de fitasa, es decir que al tratamiento anterior se le adicionaron 1000 FYT/Kg de alimento *on top* (sin considerar su matriz nutricional) (Total de fitasa utilizada: 300 g/TM de alimento que corresponden a 2.000 FYT/Kg de alimento).
- 5) Tratamiento 5. Alimento con un nivel más alto de superdosis de fitasa, es decir que al tratamiento anterior se le adicionaron 1000 FYT/Kg de alimento *on top*. (Total de fitasa utilizada: 450 g/TM de alimento que corresponden a 3.000 FYT/Kg de alimento).

### **3.4.Unidades experimentales**

- Unidad experimental: Jaula con 32 pollitos de 1 día
- Número de unidades experimentales: 35
- Unidades experimentales por tratamiento: 7 réplicas
- Número de individuos por unidad experimental: 32 pollitos machos
- Número de individuos por tratamiento: 224 pollos
- Tamaño jaula: 2 m de largo x 1 m de ancho

### **3.5. Selección de animales**

Se utilizaron 1120 pollitos de engorde machos de 1 día de edad de la línea Cobb 500, con peso aproximado de  $41 \pm 1,8$  gramos, para evitar manipulación en granja, los pollitos fueron vacunados desde en incubadora, contra las enfermedades de Marek + Gumboro (HVT+IBD, Vaxxitek®) y Newcastle (La sota Volvac ND).

### **3.6.Alimento**

Las dietas fueron en harina a base a maíz y pasta de soya, el programa y perfil nutricional se adaptado de la guía de nutrición de la estirpe (Cobb-Vantress, 2015) en tres fases: iniciación (1-



10 días de edad), crecimiento (11-22 días de edad) y finalización (23-42 días) (Cuadro N° 1) y acceso *ad libitum*. Previo a la formulación y fabricación del alimento, se analizó por NIR al maíz y soya a utilizar, con el propósito de evaluar su composición nutricional general y conocer el aporte de fósforo fítico.

Cuadro N° 1. 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

Nota:\* EMA: Energía Metabolizable Aparente, Aves

Fuente: Cobb-Vantress (2015)

### 3.7.Diseño Experimental

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 23®; para ello se utilizaron los promedios resultantes de cada repetición (n=7), empleando la semana como variable de tiempo. Se aplicó un Diseño Completo al Azar (DCA), para someter a los datos a un ANOVA y detectándose diferencias significativas con la prueba de Tukey (P<0.05). Siguiendo el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

En donde:

Y<sub>ij</sub> Variable dependiente

$\mu$  Media poblacional (intercepto)

$\alpha_i$  Efecto del tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  Error experimental

### 3.8.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 DCA (Figura 4).

		U.E.18	T1R4
U.E.1	T5R4	U.E.19	T2R5
U.E.2	T2R2	U.E.20	T2R3
U.E.3	T5R7	U.E.21	T4R7
U.E.4	T3R2	U.E.22	T2R7
U.E.5	T3R5	U.E.23	T2R4
U.E.6	T3R6	U.E.24	T2R1
U.E.7	T5R1	U.E.25	T4R1
U.E.8	T3R1	U.E.26	T4R6
U.E.9	T3R7	U.E.27	T2R6
U.E.10	T4R4	U.E.28	T1R7
U.E.11	T4R2	U.E.29	T5R6
U.E.12	T5R5	U.E.30	T5R3
U.E.13	T1R1	U.E.31	T1R5
U.E.14	T4R5	U.E.32	T1R2
U.E.15	T3R3	U.E.33	T3R4
U.E.16	T4R3	U.E.34	T5R2
U.E.17	T1R6	U.E.35	T1R3

**Figura 4.** Distribución de los tratamientos en las unidades experimentales

Tratamiento 1 (Control Positivo). Alimento que cumple con todos los requerimientos de fosforo y calcio y sin el uso de fitasa.

Tratamiento 2 (Control Negativo). Alimento sin el uso de fitasa al cual se le aplicaría la matriz nutricional de la misma.

Tratamiento 3. 1000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional)

Tratamiento 4. 2000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional + 150 g/TM on top).

Tratamiento 5. 3000 FYT/Kg (150 g/TM con matriz nutricional + 300 g/TM on top).

Elaborado: Alberto Romero; Andrés Tapia.

### 3.9. Infraestructura y equipos

Galpón ubicado en la parroquia de Tumbaco Sector Tola Chica de 20 metros de largo por 6 metros de ancho de construcción mixta madera y paredes de ladrillo, piso de tierra, es abierto, el material de la cama fue cascarilla de arroz. La densidad poblacional manejada al inicio fue de 16 aves/ $m^2$  para finalizar con una densidad de 12 aves/ $m^2$  debido a la mortalidad y sacrificio de aves que se realizó semanalmente para cumplir con las mediciones requeridas para satisfacer las variables; el programa de iluminación fue natural (12 horas de fotoperiodo  $\pm$  0,5 horas), la temperatura controlada con el uso de criadoras convencionales a gas y un calentador a diésel durante 4 semanas, el acceso al agua fue *ad libitum*.

Entre los equipos utilizados se mencionan:

- 35 Comederos inicial minitolva
- 35 Comederos tipo tolva
- 35 bebederos manuales de 4 litros
- 35 bebederos automáticos
- 4 Criadoras a gas
- 1 calentador de ambiente a diésel
- 8 cilindros de gas

- 20 metros manguera industrial
- Oxímetro veterinario Nonim 8600V
- 1 Balanza digital de precisión
- 1 Balanza digital peso del alimento
- 1 Balanza digital para pesaje de aves
- 100 metros de soga para colgar equipo
- Materiales de oficina
- Equipo fotográfico para registro.
- Registro de variables.

### **3.10. Recolección de datos y métodos de evaluación**

#### **3.10.1. Peso corporal**

Se registró el peso/animal de forma semanal, teniendo los pesajes a los 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad, el dato registrado se expresó en g/pollo.

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

Se registró diariamente el alimento total consumido en cada unidad experimental, para obtener el promedio de consumo/animal semanal (CAs) y acumulado (CAa), los datos se expresan g/ave.

#### **3.10.3. Índice de conversión**

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

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

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

### 3.10.4. Mortalidad semanal y acumulada

Para su cálculo se utilizó el número de aves muertas durante el transcurso de la investigación expresado en porcentaje utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Mortalidad semanal} = \frac{\text{Nº de aves muertas en la semana}}{\text{Nº de aves iniciales}} \times 100$$

$$\text{Mortalidad acumulada} = \frac{\text{Nº de aves muertas acumuladas}}{\text{Nº de aves iniciales}} \times 100$$

### 3.10.5. 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, expresado en porcentaje. El diagnóstico para ascitis se realizó mediante necropsia. Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Mortalidad semanal por ascitis} = \frac{\text{Nº de aves muertas por ascitis en la semana}}{\text{Nº de aves iniciales}} \times 100$$

$$\text{Mortalidad acumulada por ascitis} = \frac{\text{Nº de aves muertas acumuladas por ascitis}}{\text{Nº de aves iniciales}} \times 100$$

### 3.10.6. Relación Ventricular.

Para su cálculo se sacrificó 4 aves por tratamiento y se procedió a separar y pesar el ventrículo derecho y el ventrículo izquierdo para luego poder sacar la relación existente entre los mismos procediendo a dividir el ventrículo derecho sobre el ventrículo izquierdo, para luego aplicar la interpretación según la Tabla N° 1.

**Tabla 1***Interpretación de resultados de la relación del peso del VD/VI.*

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

Fuente: (Barahona, 2007)

**3.10.7. Rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso grasa abdominal**

Al final de la etapa experimental se escogió al azar 4 aves de cada repetición, se pesaron, luego se faenaron y se estableció el rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y el peso de grasa abdominal.

**3.10.8. Contenido de Mio-inositol**

A los 42 días de vida de las aves se tomaron dos muestras de sangre por cada tratamiento y repetición la misma que fueron enviadas a Suiza para el análisis de mioinositol por auspicio de DSM Nutritional Products Ecuador.

La sangre entera fue recolectada de la vena alar una cantidad de 4 ml de vacutainers potasio/EDTA y, el plasma obtenido después de la centrifugación a 3000 rpm a 4 ° C. Las proteínas se precipitan del plasma mediante la adición de 2 volúmenes de acetonitrilo, que contienen [2H6] -mio-inositol para dar una concentración final de 10 µM. El precipitado de proteína se separa por centrifugación y el sobrenadante se transfiere a tubos de micro centrifuga eppendorfs para liofilización. Las muestras se re suspenden en agua de HPLC y se centrifugaron

más antes de transferirlas a los viales de muestra para análisis de LC-MS / MS (Leunga, Millsb, Burrena, Copp, & Greene, 2011), Los resultados son presentados en  $\mu\text{mol/L}$ .

### **3.10.9. Mineralización de los huesos**

Se sacrificó 4 aves por tratamiento semanalmente con el método de dislocación cervical para luego proceder a retirar la tibia derecha, la muestra se secó a  $105^{\circ}\text{C}$  durante 12 h y después se desgrasó en un aparato Soxhlet usando éter de petróleo. Los huesos se secaron de nuevo a  $105^{\circ}\text{C}$  durante 12 h, siendo pesados y calcinados en un horno de mufla a  $600^{\circ}\text{C}$  durante 8 h. La ceniza y la concentración total de P y Ca se determinaron de acuerdo con AOAC International (AOAC International, 2000), métodos para la ceniza (930.15), Ca (968,08), y P (946,06), los datos son reportados en porcentaje.

### **3.10.10. Saturación de oxígeno en la sangre**

La saturación de oxígeno determinado por el equipo (NONIN 8600V) está definido como la cantidad de oxígeno unido a la hemoglobina de los enterocitos en una cierta cantidad de sangre dividido para la capacidad de oxígeno.

Para esta determinación se siguió las recomendaciones necesarias como aves tranquilas por lo que el manejo de las aves es muy importante antes, durante y luego de esta determinación, se recostó las aves apoyando el costado izquierdo, el análisis se realizó en el ala derecha.

Luego de ubicar el lector sobre el área a medir la saturación de oxígeno o ritmo cardiaco se esperó aproximadamente 10 segundos hasta que la señal se traduzca en el display del equipo.

La lectura de saturación de oxígeno debe estar cercano al 100% en aves sanas, por lo que se considera normal a partir del 90%, para el caso de aves con problemas cardio respiratorios el porcentaje de saturación de oxígeno es menor a 90% pero nunca inferior a 75%.

Se mantuvo prendido el parlante y luz indicadora del equipo de esta manera se pudo asociar por el sonido o luz si estamos ubicados correctamente sobre un vaso. En el caso de la luz se presente de tres colores, Verde significa que estamos correctamente ubicados, Amarillo indica que la señal tiene interrupciones porque estamos ubicados cerca de un vaso, la luz Roja significa que no tenemos señal porque estamos fuera del vaso.

Se determinó los niveles de saturación de oxígeno y ritmo cardiaco en aves vivas desde 1 día de vida hasta la los 42 días de edad.

### **3.10.11. Hematocrito**

La palabra hematocrito indica separación de la sangre en sus componentes y es el porcentaje de células rojas empaquetadas en un volumen determinado de sangre, los resultados son expresados en porcentaje.

La importancia de esta prueba está en la utilidad para diagnosticar anemias y poliglobulias.

#### **3.10.11.1. Procedimiento**

1. Se realizó una punción en la vena alar con aguja N# 26
2. Se aproximó el extremo identificado con color rojo a la sangre
3. Se llenó el capilar con sangre anticoagulada.
4. Se cerró el extremo por el que se llenó el capilar con calor.
5. Se Centrifugó en la micro centrífuga por el tiempo y RPM establecidas
6. Procedimos a leer el porcentaje de células rojas empaquetadas, con relación al volumen total de sangre que está en el tubo.



**3.10.12. Análisis Económico**

El cálculo de costos de producción por kilogramo de pollo vivo para cada tratamiento, se lo realizó simulando valores de producción reales a la fecha de venta de las aves con la siguiente fórmula:

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

El cálculo del beneficio/costo para cada tratamiento, se lo realizó simulando valores de venta de las aves con los gastos incurridos con la siguiente fórmula:

$$B/C = \frac{\text{BENEFICIO DEL PERIODO}}{\text{GASTOS DEL PERIODO}} \times 100$$

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Peso corporal

Los resultados para esta variable se presentan en la tabla N° 2, en la cual podemos observar que a lo largo del ensayo no existió un efecto claro sobre el peso corporal entre las dosis suministradas de fitasa microbiana (1000, 2000, 3000 FYT/Kg) y el control positivo, esto nos permite ratificar que el uso de enzimas en una dieta matrizada tiene su efecto, dado que no existen diferencias frente al control positivo ya que se están supliendo todas las necesidades nutricionales de las aves. El uso de la fitasa microbiana ayuda al mejor aprovechamiento de las materias primas, un efecto opuesto sucede al comparar estas dietas con el control negativo, el presente estudio presentó diferencias significativas entre T4 (2000FYT/Kg) y el T2 control negativo en los días 7, 14, 28, 42 ( $p>0,005$ ).

Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los reportados por (Farhadi, Karimi, Sadeghi, Rostamzadeh, & Bedford, 2017) quienes obtuvieron diferencias significativas en el uso de fitasas 4000 FTU/kg frente al control negativo, donde se evaluó el peso a los 21 y 42 días, por otra parte (Chung, Rutherford, Thomas, & Moughan, 2013) no reportan diferencias significativas en esta variable a pesar que evaluaron cuatro niveles de fitasa (500, 1000, 1500 y 3000 U/kg) frente a un control negativo y son similares a los encontrados por (Rodriguez Saldaña, 2016) al evaluar dos niveles de fitasa bacteria (750 y 1500 FTU/kg) quien no encontró diferencias significativas.

**Tabla 2***Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el peso corporal (g.).*

TRATAMIENTOS	DÍAS					
	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	203,7 <sup>a</sup>	506,4 <sup>a</sup>	892,3 <sup>a</sup>	1474,4 <sup>ab</sup>	2099,2 <sup>a</sup>	2739,5 <sup>ab</sup>
T2 Control Negativo	192,3 <sup>b</sup>	479,5 <sup>b</sup>	943,7 <sup>a</sup>	1446,2 <sup>b</sup>	2065,1 <sup>a</sup>	2703,1 <sup>b</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	198,00 <sup>ab</sup>	491,1 <sup>ab</sup>	889,3 <sup>a</sup>	1474,6 <sup>ab</sup>	2127,2 <sup>a</sup>	2805,7 <sup>ab</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	201,2 <sup>a</sup>	505,1 <sup>a</sup>	916,1 <sup>a</sup>	1512,3 <sup>a</sup>	2125,2 <sup>a</sup>	2828,9 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	196,5 <sup>ab</sup>	498,5 <sup>a</sup>	861,3 <sup>a</sup>	1485,3 <sup>ab</sup>	2093,9 <sup>a</sup>	2747,0 <sup>ab</sup>
Error estándar	1,1	2,5	12,8	7,1	10,8	14,8

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).**4.2. Consumo de alimento semanal y acumulado**

En la Tabla N° 3 se muestran los resultados para el consumo de alimento semanal y acumulado; no se registran diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ), para el consumo semanal a los 7, 28, 35 y 42 días y para el consumo acumulado para los 7, 35 y 42 días, por otra parte se encontró diferencias significativas en los consumos semanales a los 14 y 21 días entre los tratamiento que recibieron el uso de fitasa (1000 FYT, 2000 FYT, 3000 FYT) frente al control negativo, mientras que para el consumo acumulado se tiene diferencias significativas a los 14 días entre 3000 FYT y el Control Positivo, a los 21 días 1000 FYT-3000FYT frente al Control Positivo y Control Negativo y a los 28 días entre el 2000 FYT y Control Negativo, mencionando que no existe un efecto de la superdosis de fitasa sobre consumo de alimento desde los 28 a los 42 días; varias publicaciones indican que la adición de fitasa no tiene efecto significativo sobre el consumo (Chung, Rutherford, Thomas, & Moughan, 2013) (Farhadi, Karimi, Sadeghi, Rostamzadeh, & Bedford, 2017) (Rodríguez Saldaña, 2016).

**Tabla 3***Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el consumo semanal y acumulado (g.)*

TRATAMIENTOS	DÍAS					
	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	224,1 <sup>a</sup>	395,7 <sup>bc</sup>	624,6 <sup>ab</sup>	912,2 <sup>a</sup>	1102,4 <sup>a</sup>	1178,1 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	234,9 <sup>a</sup>	390,8 <sup>c</sup>	603,6 <sup>b</sup>	902,0 <sup>a</sup>	1107,9 <sup>a</sup>	1178,1 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	237,3 <sup>a</sup>	417,6 <sup>a</sup>	644,7 <sup>a</sup>	930,9 <sup>a</sup>	1158,4 <sup>a</sup>	1237,3 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	230,6 <sup>a</sup>	414,6 <sup>ab</sup>	642,6 <sup>a</sup>	959,1 <sup>a</sup>	1107,2 <sup>a</sup>	1232,1 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	237,0 <sup>a</sup>	408,2 <sup>abc</sup>	658,9 <sup>a</sup>	916,3 <sup>a</sup>	1080,7 <sup>a</sup>	1184,2 <sup>a</sup>
Error estándar	1,7	2,8	5,0	7,1	14,8	9,4

TRATAMIENTOS	DÍAS					
	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	224,1 <sup>a</sup>	619,9 <sup>b</sup>	1244,5 <sup>bc</sup>	2156,7 <sup>ab</sup>	3259,1 <sup>a</sup>	4437,2 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	234,9 <sup>a</sup>	625,7 <sup>ab</sup>	1229,4 <sup>c</sup>	2131,4 <sup>b</sup>	3239,3 <sup>a</sup>	4417,4 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	237,3 <sup>a</sup>	654,9 <sup>ab</sup>	1299,6 <sup>a</sup>	2230,5 <sup>ab</sup>	3388,9 <sup>a</sup>	4626,3 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	230,6 <sup>a</sup>	645,1 <sup>ab</sup>	1287,7 <sup>ab</sup>	2246,9 <sup>a</sup>	3354,1 <sup>a</sup>	4586,2 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	237,0 <sup>a</sup>	645,2 <sup>a</sup>	1304,1 <sup>a</sup>	2220,4 <sup>ab</sup>	3301,1 <sup>a</sup>	4485,3 <sup>a</sup>
Error estándar	1,7	4,0	7,6	13,0	22,8	29,6

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Aureli, y otros, (2011) reporta diferencias significativas hasta los 22 días, al igual que (Broch, y otros, 2018) incrementando el consumo de alimento a los 21 y 42 días entre los tratamientos (Control positivo, CN + 1000 FYT, CN +2000 FYT, CN + 3000 FYT), frente al control negativo.

### 4.3. Índice de conversión comercial y corregida por mortalidad

**Tabla 4**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el índice de conversión comercial (ICc) y corregida por mortalidad (ICm).*

TRATAMIENTOS	DÍAS					
	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	1,10 <sup>b</sup>	1,22 <sup>b</sup>	1,41 <sup>ab</sup>	1,47 <sup>b</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	1,22 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,31 <sup>b</sup>	1,46 <sup>b</sup>	1,57 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	1,20 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	1,46 <sup>ab</sup>	1,51 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	1,15 <sup>ab</sup>	1,28 <sup>ab</sup>	1,41 <sup>ab</sup>	1,49 <sup>ab</sup>	1,58 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	1,21 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	1,53 <sup>a</sup>	1,49 <sup>ab</sup>	1,58 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>
Error estándar	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01

TRATAMIENTOS	DÍAS					
	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	1,10 <sup>c</sup>	1,24 <sup>b</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>	1,90 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	1,27 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,65 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	1,96 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	1,23 <sup>ab</sup>	1,36 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	1,86 <sup>a</sup>	1,97 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	1,17 <sup>bc</sup>	1,30 <sup>ab</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,57 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	1,22 <sup>ab</sup>	1,30 <sup>ab</sup>	1,57 <sup>a</sup>	1,56 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,93 <sup>a</sup>
Error estándar	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

En la Tabla N° 4 se muestran los resultados para esta variable, en la que se resalta que no existen diferencias significativas a los 35 y 42 días en el índice de conversión comercial, tampoco existieron diferencias significativas para el índice de conversión corregida por mortalidad para los 21, 28, 35 y 42 días, mientras que si se observan diferencias significativas en el ICc del

control positivo a los 7 y 14 días de edad frente al control negativo, 1000FYT y 3000FYT, a los 21 días de edad el control negativo muestra mejores resultados frente al uso de 3000FYT, a los 28 días los valores de control positivo y control negativo presentaron mejor ICc al comparar con el uso de 1000 FYT.

Estudios realizados por otros autores al igual que en la presente investigación no encuentran diferencias significativas para estas variables a los 35 días (Manobhavan , y otros, 2015) tampoco a los 42 días (Farhadi, Karimi, Sadeghi, Rostamzadeh, & Bedford, 2017); contrario a esto (Broch, y otros, 2018) encuentran diferencias significativas, presentando el control negativo un valor más alto que los tratamientos (Control positivo, CN + 1000 FYT, CN +2000 FYT, CN + 3000 FYT), y dentro de estos el uso de 2000 FYT fue el que mejor desempeño tuvo.

#### **4.4. Mortalidad semanal y acumulada**

Los datos de la mortalidad semanal se detallan en la tabla 5 en la cual se puede destacar un menor porcentaje de mortalidad en el uso de 3000 FYT a los 14 días (0,446%), y 21 días (0,893%), este valor se muestra relativamente bajo comparado con los demás tratamientos evaluados.

Se enfatiza la situación probable que el uso de 3000 FYT tuvo una respuesta positiva con respecto a la variable mortalidad semanal, sin embargo, otros autores en la mayoría de artículos publicados no reportan influencia de los tratamientos con el uso de superdosis en la mortalidad semanal (Woyengo & Nyachoti, Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry-current knowledge and directions for future research, 2012); (Cowieson, Ruckebusch, Knap, Guggenbuhl, & Fru-Nji, 2016).

El parámetro de mortalidad acumulada no muestra diferencia estadística significativa, sin embargo, se puede enfatizar que el control positivo y el uso de 300 FYT de fitasa presenta los menores porcentajes de mortalidad acumulada a los 42 días muestran un menor porcentaje de mortalidad frente al resto de tratamientos.

**Tabla 5**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la mortalidad semanal y acumulada expresada en %*

TRATAMIENTOS	DÍAS						Acumulada
	7	14	21	28	35	42	42
T1 Control Positivo	2,68 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	2,23 <sup>a</sup>	2,68 <sup>a</sup>	5,36 <sup>a</sup>	4,46 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	2,68 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	4,46 <sup>a</sup>	6,70 <sup>a</sup>	5,36 <sup>a</sup>	4,91 <sup>a</sup>	25,45 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	8,04 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	3,13 <sup>a</sup>	8,04 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	28,13 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	4,46 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	7,14 <sup>a</sup>	5,36 <sup>a</sup>	21,88 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	4,02 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	8,04 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>
Error estándar	0,76	0,34	0,47	0,65	0,75	0,64	1,64

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.5. Mortalidad semanal y acumulada por síndrome ascítico

La mortalidad semanal por ascitis se detalla en la tabla 6 en la cual es importante señalar que el uso de 3000 FYT la mortalidad por ascitis en el día 21 es baja en comparación a los demás tratamientos y al grupo control, además es posible señalar que se evidencia una diferencia estadística significativa en el día 28 presentando un mayor valor en el tratamiento negativo frente al uso de 3000FYT ( $p > 0,05$ ).

A continuación, se expone el detalle de los datos de la mortalidad acumulada por ascitis presente a los 42 días, se determinó que no existe diferencia significativa como muestra la tabla,

pero si se presenta una diferencia numérica importante con un menor porcentaje de mortalidad por síndrome ascítico al utilizar 3000 FYT.

Rodriguez Saldaña (2016), no encuentra diferencias significativas para este parámetro con el uso de fitasa (750 FTU y 1500 FTU) pero si encuentra una diferencia numérica a favor del uso de una superdosis de fitasa, algo que tiene concordancia con el presente estudio.

**Tabla 6**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la mortalidad por síndrome ascítico semanal y acumulada expresada en %*

TRATAMIENTOS	DÍAS						Acumulada
	7	14	21	28	35	42	42
T1 Control Positivo	0,00 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	2,23 <sup>a</sup>	2,68 <sup>ab</sup>	5,36 <sup>a</sup>	4,02 <sup>a</sup>	15,18 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	4,02 <sup>a</sup>	6,70 <sup>a</sup>	5,36 <sup>a</sup>	4,91 <sup>a</sup>	20,98 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	0,00 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	3,13 <sup>a</sup>	2,68 <sup>ab</sup>	8,06 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,79 <sup>ab</sup>	7,14 <sup>a</sup>	5,36 <sup>a</sup>	16,07 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	1,34 <sup>b</sup>	7,59 <sup>a</sup>	3,13 <sup>a</sup>	12,95 <sup>a</sup>
Error estándar	0,00	0,26	0,48	0,63	0,75	0,64	1,38

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).



**Tabla 7**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre % de mortalidad por ascitis en relación al % de mortalidad total.*

TRATAMIENTOS	DÍAS						Acumulada
	7	14	21	28	35	42	42
T1 Control Positivo	0%	14%	57%	43%	100%	57%	75%
T2 Control Negativo	0%	0%	71%	100%	57%	100%	83%
T3 1000 FYT MATRIZADO	0%	29%	71%	52%	86%	71%	70%
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	0%	0%	57%	43%	100%	71%	76%
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	0%	0%	29%	29%	95%	52%	66%

#### 4.6. Relación Ventricular

Los resultados de esta variable se exponen en la tabla 7, no se encuentra diferencias significativas entre los tratamientos, al comparar los resultados con los expuestos por (Barahona, 2007), se podría acotar que todos los tratamiento por el hecho de haber sido criados a 2500 msnm y con alimentación *ad libitum* tienden a ser afectados en cierto grado por el síndrome ascítico ya que la mayor parte de los tratamientos se encuentran con un índice ventricular  $\geq 0,30$ .

**Tabla 8**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la relación ventricular.*

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	0,32a	0,19a	0,28a	0,29a	0,32a
T2 Control Negativo	0,28a	0,27a	0,28a	0,36a	0,33a
T3 1000 FYT MATRIZADO	0,30a	0,32a	0,30a	0,33a	0,36a
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	0,29a	0,25a	0,38a	0,32a	0,29a
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	0,26a	0,30a	0,29a	0,38a	0,31a
Error estándar	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.7. Rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso de grasa abdominal

Los resultados de esta variable se exponen en la tabla 8, no se encuentra un efecto del uso de fitasa microbiana sobre la medición de estas variables es así que no se observan diferencias significativas entre los tratamientos, estos resultados concuerdan con (Broch, y otros, 2018) quienes no encontraron diferencias significativas en rendimiento la canal, ni en cortes.

**Tabla 9**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y peso de grasa abdominal*

TRATAMIENTOS	VARIABLE		
	RENDIMIENTO A LA CANAL %	RENDIMIENTO DE PECHUGA %	GRASA ABDOMINAL g.
T1 Control Positivo	79,51a	26,18a	70,25 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	78,48a	25,63a	77,25 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	79,38a	27,56a	85 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	77,91a	26,54a	71,25 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	78,82a	26,01a	73,25 <sup>a</sup>
Error estándar	1,16	1,60	6,17

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.8.Contenido de Mio-inositol

El contenido de Mioinositol en plasma se muestra en la tabla 9 y podemos observar que existen diferencias significativas entre el uso de 3000 FYT frente al control negativo y control positivo, al igual que (Cowieson, Aureli, Guggenbuhl, & Fru-Nji, 2014) quien encontró que las concentraciones plasmáticas de mioinositol aumentaron sustancialmente ( $P < 0.001$ ) por adición de fitasa a la dieta, de la misma manera (Beeson, Walk, Bedford, & Olukosi, 2017) encontraron una tendencia cuadrática ( $P=0.070$ ) en el contenido de mioinositol con la suplementación de fitasa.

**Tabla 10**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre nivel de mioinositol plasmático ( $\mu\text{mol/L}$ )*

TRATAMIENTOS	DÍAS
	42
T1 Control Positivo	171,00 <sup>c</sup>
T2 Control Negativo	211,58 <sup>bc</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	240,50 <sup>ab</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	236,64 <sup>ab</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	277,07 <sup>a</sup>
Error estándar	6,89

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.9.Mineralización de los huesos

En el contenido de cenizas, calcio y fosforo no evidenció diferencias significativas entre tratamientos (tabla 10), observándose diferencias numéricas a los 42 días entre los tratamientos siendo los valores más altos en ceniza y calcio con el uso de 3000 FYT y el de menor valor el control negativo y para el fosforo siendo el mayor valor el tratamiento de 1000 FYT y el menor el de 2000FYT, algunos autores como (Manobhavan, y otros, 2015), encuentran diferencias significativas para cenizas, calcio y fosforo a los 35 días, y (Broch, y otros, 2018) encuentra

diferencias significativas para calcio a los 21 en el control negativo y con el uso de 3000 FYT y no encontró diferencias significativas para el calcio y fosforo a los 42 días.

**Tabla 11**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la Mineralización de los huesos (%)*

CENIZAS

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	9,95 <sup>a</sup>	9,04 <sup>a</sup>	13,11 <sup>a</sup>	13,61 <sup>a</sup>	11,13 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	12,66 <sup>a</sup>	10,92 <sup>a</sup>	11,52 <sup>a</sup>	9,72 <sup>a</sup>	9,96 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	9,39 <sup>a</sup>	10,80 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	9,93 <sup>a</sup>	12,68 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	11,76 <sup>a</sup>	11,67 <sup>a</sup>	11,18 <sup>a</sup>	9,30 <sup>a</sup>	11,19 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	9,95 <sup>a</sup>	9,46 <sup>a</sup>	7,81 <sup>a</sup>	8,77 <sup>a</sup>	12,78 <sup>a</sup>
Error estándar	1,91	1,34	2,38	3,24	1,25

CALCIO

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	9,70 <sup>a</sup>	9,25 <sup>a</sup>	14,11 <sup>a</sup>	13,86 <sup>a</sup>	10,06 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	12,90 <sup>a</sup>	9,83 <sup>a</sup>	11,06 <sup>a</sup>	9,10 <sup>a</sup>	10,69 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	8,90 <sup>a</sup>	10,16 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	9,29 <sup>a</sup>	12,90 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	12,02 <sup>a</sup>	11,77 <sup>a</sup>	10,86 <sup>a</sup>	9,23 <sup>a</sup>	11,32 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	9,87 <sup>a</sup>	9,89 <sup>a</sup>	8,25 <sup>a</sup>	8,47 <sup>a</sup>	12,33 <sup>a</sup>
Error estándar	1,62	1,26	1,53	2,73	1,57

FOSFORO

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	10,19 <sup>a</sup>	8,82 <sup>a</sup>	12,11 <sup>a</sup>	13,37 <sup>a</sup>	12,20 <sup>a</sup>
T2 Control Negativo	12,43 <sup>a</sup>	11,90 <sup>a</sup>	11,98 <sup>a</sup>	10,34 <sup>a</sup>	9,23 <sup>a</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	9,88 <sup>a</sup>	11,44 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	10,57 <sup>a</sup>	12,45 <sup>a</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	11,50 <sup>a</sup>	11,57 <sup>a</sup>	11,51 <sup>a</sup>	9,36 <sup>a</sup>	11,06 <sup>a</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	10,03 <sup>a</sup>	9,02 <sup>a</sup>	7,38 <sup>a</sup>	9,07 <sup>a</sup>	13,22 <sup>a</sup>
Error estándar	1,59	1,27	1,53	2,81	1,63

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.10. Saturación de oxígeno en la sangre

Los resultados de esta variable se exponen en la tabla 11 podemos encontrar que no existió diferencias significativas en las mediciones realizadas en el primer día de edad y a los 21 días entre los tratamientos, pero si existen diferencias significativas a los 7 días entre el uso de 3000 FYT y el control positivo, a los 14 días entre 1000 FYT y 2000 FYT, a los 28 días y 42 días entre 3000 FYT y el control negativo y a los 35 días entre el 2000 FYT – 3000 FYT frente al control negativo y 1000 FYT.

Gordillo (2007), reporta que no existen diferencias significativas al primer día de edad de los pollitos al igual que en la presente investigación.

**Tabla 12**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre la saturación de oxígeno en la sangre.*

TRATAMIENTOS	DÍAS						
	0	7	14	21	28	35	42
T1 Control Positivo	84,86 <sup>a</sup>	81,29 <sup>b</sup>	82,14 <sup>ab</sup>	82,57 <sup>a</sup>	80,43 <sup>ab</sup>	81,14 <sup>ab</sup>	81,57 <sup>ab</sup>
T2 Control Negativo	83,14 <sup>a</sup>	82,71 <sup>ab</sup>	81,14 <sup>ab</sup>	80,14 <sup>a</sup>	79,57 <sup>b</sup>	79,57 <sup>b</sup>	78,57 <sup>b</sup>
T3 1000 FYT MATRIZADO	86,00 <sup>a</sup>	83,29 <sup>ab</sup>	80,14 <sup>b</sup>	82,00 <sup>a</sup>	83,57 <sup>ab</sup>	79,43 <sup>b</sup>	82,29 <sup>ab</sup>
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	85,86 <sup>a</sup>	84,71 <sup>ab</sup>	87,14 <sup>a</sup>	83,43 <sup>a</sup>	81,71 <sup>ab</sup>	86,00 <sup>a</sup>	81,43 <sup>ab</sup>
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	87,71 <sup>a</sup>	87,29 <sup>a</sup>	84,43 <sup>ab</sup>	84,00 <sup>a</sup>	85,43 <sup>a</sup>	85,86 <sup>a</sup>	86,43 <sup>a</sup>
Error estándar	0,615	0,612	0,815	0,645	0,656	0,731	0,697

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.11. Hematocrito

Los resultados de esta variable se exponen en la tabla 12, estos fueron realizados a pollos de 42 días siguiendo los parámetros previos establecidos en la metodología, se puede apreciar que

no existe diferencia en los resultados obtenidos, considerando de esta manera que los tratamientos expuestos no implicaron ningún efecto en esta variable, estos resultados concuerdan con las investigaciones realizadas por (Aureli, y otros, 2011) donde los valores se encuentran alrededor del 30% sin encontrarse diferencias significativas al comparar el control negativo con el uso de fitasas.

Yang, y otros, (2016) encontraron que aves normales poseen un hematocrito de  $29.75\% \pm 1.09$  y para aves que presentaron el síndrome ascítico es de  $32.5\% \pm 0.7$ , mientras que (Zhang, Wu, Chamba, & Ling, 2007) quien muestra valores de hematocrito para gallinas tibetanas criadas a 100msnm de  $29.73\% \pm 0.32$  y para aves criadas a 2900 msnm de  $36.49\% \pm 0.34$ ., las aves del presente estudio fueron criadas a 2500 msnm por lo que los valores están entre el 35% y 38%.

Ocampo R., y otros, (2012) reportan diferencias significativas en cuanto a valores de hematocrito a nivel del mar entre dos líneas genéticas comerciales siendo estos  $25.84\% \pm 2.48$  para la línea Cobb y  $29.39\% \pm 2.58$  para la línea Ross.

### **Tabla 13**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre el hematocrito en sangre %.*

TRATAMIENTOS	DÍAS
	42
T1 Control Positivo	37,54a
T2 Control Negativo	38,39a
T3 1000 FYT MATRIZADO	37,29a
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 ON TOP	35,86a
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 ON TOP	37,32a
Error estándar	0,511

Nota: Letras distintas en una misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.12. Análisis económico

Posterior a la realización de los cálculos especificados en la metodología se detalla a continuación en la tabla 13 los costos de producción por tratamiento y el Beneficio/Costo bajo las condiciones ambientales y económicas en las que fue desarrollado el presente experimento, en la cual se evidencia que el Tratamiento 5 (1000 FYT MATRIZADO + 2000 FYT ON TOP) presentó mayor Beneficio/Costo (0,487), representando una ganancia de 48,7 centavos por cada dólar invertido frente al Tratamiento 1(Control Positivo) en el cual se genera un beneficio de 48,4 centavos con una diferencia de 0,62%.

**Tabla 14**

*Efecto del uso de fitasa microbiana sobre los costos de producción*

Tratamiento	Costo/Tratamiento	Beneficio Bruto	Beneficio Neto	Beneficio/Costo
T1 Control Positivo	686,989	1019,78	332,79	0,484
T2 Control Negativo	638,18	923,29	285,12	0,447
T3 1000 FYT MATRIZADO	638,05	923,91	285,86	0,448
T4 1000 FYT MATRIZADO + 1000 FYT ON TOP	681,50	1012,53	331,03	0,486
T5 1000 FYT MATRIZADO + 2000 FYT ON TOP	687,80	1022,57	334,77	0,487

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- En base a los resultados obtenidos se puede concluir que la utilización de superdosis de fitasas no posee un claro efecto significativo sobre los parámetros zootécnicos (peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia, mortalidad y mortalidad por ascitis) a los 42 días entre el control positivo y las diferentes dosis de fitasa, y solo encontrándose diferencias significativas en el peso corporal a los 42 días entre el uso de 2000FYT y el control negativo.
- El uso de 3000 FYT tiene mejores resultados en cuanto a la saturación de oxígeno en sangre en comparación al control negativo, en cuanto al hematocrito y relación ventricular se puede señalar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, pero si se puede evidenciar el efecto que ejerce la altitud a la que se realizó el ensayo resultado de estos un nivel alto de hematocrito ente (35.857% y 38.393%), y la relación ventricular estando en un promedio mayor a 0.30.
- Las concentraciones plasmáticas de mioinositol aumentaron sustancialmente por la adición de fitasa a la dieta, además las concentraciones de calcio fosforo y cenizas no tuvieron diferencias significativas por lo cual se puede concluir que la fitasa microbiana es efectiva para mejorar la digestibilidad del Ca y P, así como restaura el rendimiento cuando las aves son alimentadas con dietas insuficientes en Ca y P.



- El rendimiento a la canal, porcentaje de pechuga y grasa no se vieron afectados por la adición de fitasa microbiana.
- El Tratamiento 5 (1000 FYT MATRIZADO + 2000 FYT ON TOP) presentó mayor Beneficio/Costo frente al Tratamiento 1(Control Positivo) evidenciándose una diferencia de 0,62% bajo las condiciones económicas y ambientales en que se realizó la presente investigación.

## **5.2.Recomendaciones**

- En una nueva investigación se recomienda tener en cuenta tratamientos con niveles más altos de fitasa y realizar un seguimiento a la digestibilidad del fósforo, concentración de mioinositol en ileon, en excretas y en sangre para poder describir la ruta metabólica y realizar una mejor correlación entre el efecto del uso de superdosis de fitasa y la incidencia de síndrome ascítico.
- Se recomienda realizar una investigación con un mayor número de repeticiones y a mayor altitud para poder observar mayores diferencias entre los tratamientos.
- Realizar una investigación similar añadiendo una mezcla de una superdosis de fitasa y fosfatasa para acelerar la digestión del fósforo fítico y así poder tener una mayor concentración de mioinositol y observar de mejor manera el efecto sobre la incidencia del síndrome ascítico.

## REFERENCIAS

- Soitamo, A., Råbergh, C., Gassmann, M., Sistonen, L., & Nikinmaa, M. (2001). Characterization of a Hypoxia-inducible Factor (HIF-1a) from Rainbow Trout. *The journal of biological chemistry*, 19699–19705.
- Acosta, A., & Cárdenas, M. (2006). Enzimas en la alimentación de las aves. Fitassas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 377-387.
- AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17. AOAC Int. Caithersburg, MD.
- Arce, J., Ávila, E., & López, C. (2002). Edad de reproductora pesada y peso del huevo sobre los parámetros productivos y la incidencia del síndrome ascítico en la progenie. *Técnico Pecuaria Mexico*, 2(40), 149-155.
- Arce, J., Gutiérrez, E., Avila, E., & López, C. (2002). Ambient temperature effect on productive parameters an ascites syndrome mortality in broilers. *Tecnología pecuaria México*, 285-289.
- Aureli, R., Umar Faruk, M., Cechova, I., Pedersen, P., Elvig-Joergensen, S., Fru, F., & Broz, J. (2011). The Efficacy of a Novel Microbial 6-Phytase Expressed in *Aspergillus oryzae* on the Performance and Phosphorus Utilization in Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 2(10), 160-168.
- aviNews. (2016). La aplicación de “superdosing” de fitasa para maximizar la eliminación del fitato en la dieta. *Nutrición Animal*, 1-5.
- Baghbanzadeh, A., & Decuypere, E. (2008). Ascites syndrome in broilers: physiological and nutritional perspectives. *Avian Pathology*, 117-126.
- Barahona, P. (2007). Diagnóstico del Síndrome Ascítico Mediante el Uso de Oximetría, Hematocrito y Relación Ventricular en Pollos de Engorde a 2600 msnm. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- Barajas, A. (2 de Octubre de 2018). *Industria Avícola*. Obtenido de Industria Avícola: <https://www.industriaavicola.net/enfermedades-y-sanidad/2018-sera-otro-ano-de-crecimiento-mundial-para-el-pollo/>
- Bedford, M., & Partridge, G. (2010). *Enzymes in Farm animal Nutrition*. Reino Unido: MPG Books Group.

- Bedford, M., & Partridge, G. (2010). *Enzymes in farm animal nutrition, 2nd edition*. Londo UK: CAB International.
- Beeson, L., Walk , C., Bedford, M., & Olukosi, O. (2017). Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broiler with regular or super doses of phytase. *Poultry Science*(96), 2243-2253. doi:10.3382
- Beker, A., Vanhooser , L., Swarzlander, H., & Teeter, R. G. (2003). Graded atmospheric oxygen level effects on performance and ascites incidence in Broilers. *Poultry Science*, 82, 1550-1553.
- Broch, J., Nunes, R., Eyng, C., Pesti, G., de Souza, C., Sangali, G., . . . Teixeira, L. (2018). High levels of dietary phytase improves broiler performance. *Animal Feed Science and Technology*(244), 56-65. doi:10.1016
- Brufau, J. (1 de Abril de 2017). *Nutrinews*. Obtenido de Nutrinews: <https://nutricionanimal.info/download/nutrinews-noviembre-2014-introduccion-enzimas-brufau-irta.pdf>
- Camacho-Fernandez, D., López , C., Ávila , E., & Arce, J. (2002). Evaluation of different dietary treatments to reduce the ascites syndrome and their effect on corporal characteristics in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*(11), 164-174.
- Ceylan, N., Scheidler, S., & Stilborn, H. (2003). High available phosphorus corn and phytase in layer diets. 82.
- Chuenjit, C., Pao-Chuan, H., & Shyang-Chwen, S. (2012). Production of enzyme and growth of *Aspergillus oryzae* on soybean koji. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 228-229.
- Chul Oh, B., Chang, B., Hwa Park, K., Chul Ha, N., Kwoun Kim, H., Ha Oh, B., & Kwang Oh, T. (2001). Calcium-Dependent Catalytic Activity of a Novel Phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* DS11. *Biochemistry*, 9669–9676.
- Chung, T., Rutherford, S., Thomas, D., & Moughan, P. (2013). Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers. *British Poultry Science*, 362-373. doi:<http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2013.783902>
- Closter , A. M., van As, P., Groenen, M., Vereijken , A., van Arendonk, J., & Bovenhuis, H. (2009). Genetic and phenotypic relationships between blood gas parameters and ascites-related traits in broilers. *Poultry Science*(88), 483-490.

- CONAVE. (2013). *CONAVE*. Obtenido de <http://www.conave.org/upload/informacion/Estadisticas%20avicolas.pdf>
- Cortés, A., Estrada, A., & Ávila, E. (2006). Productivity and Ascites syndrome mortality in broilers fed. *Tecnología pecuaria México*, 241-246.
- Cowieson, A. (2010). Strategic Selection of Exogenous Enzymes for Corn/soy-based Poultry Diets. *The Journal of Poultry Science*, 1-7.
- Cowieson, A. J., Acamovic, T., & Bedford, M. R. (2006). Phytic acid and phytase: Implication for protein utilisation by poultry. *Poultry Science*, 878-885.
- Cowieson, A., & Bedford, M. (2011). Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*, 225-235.
- Cowieson, A., Aureli, R., Guggenbuhl, P., & Fru-Nji, F. (20 de Mayo de 2014). Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. *Animal Production Science*, A-J. doi:10.1071/AN14044
- Cowieson, A., Ruckebusch, J., Knap, I., Guggenbuhl, P., & Fru-Nji, F. (2016). Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. *Department of Animal Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada R3T 2N2.*, 188.
- Cowieson, A., Ruckebusch, I., Knap, P., & Guggenbuhl, F.-n. (2015). Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. *Elsevier*, 181.
- Danisco Animal Nutrition . (2014). Enzimas en la alimentación animal. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1-4.
- Danisco Animal Nutrition, Departamento Técnico. (1 de Abril de 2017). *Engormix*. Obtenido de Engormix: <http://www.engormix.com/avicultura/articulos/enzimas-alimentacion-animal-t29447.htm>
- Domínguez, B. M., Gómez, V. I., & León, F. R. (2002). Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*.
- DSM . (s.f.). *DSM nutritional products*. Recuperado el 02 de abril de 2017, de <https://onedrive.live.com/?authkey=%21AhuxnzpLSF5CzdE&cid=F53FB0558E0C38B8&id=F53FB0558E0C38B8%212042&parId=F53FB0558E0C38B8%212034&o=OneUp>
- DSM. (2018). *Fitasa y Mioinositol: oportunidades para mejorar la eficiencia en la producción avícola y porcina*. Obtenido de <https://www.dsm.com/anh/es/feedtalks/phytase-and-myo-inositol.html>

- E. M., & A. U. (2003). The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Science Direct*, 179-184.
- E. W., & D. M. (1994). Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 19-29.
- El Sitio Avícola*. (Mayo de 2016). Obtenido de Tendencias Avícolas Mundiales 2016: América representa el 44 por ciento de la producción mundial de pollo:  
<http://www.elsitioavicola.com/articles/2866/tendencias-avacolas-mundiales-2016-amarica-representa-el-44-por-ciento-de-la-produccion-mundial-de-pollo/>
- Erdman, J. (1979). Oilseed phytates: Nutritional implications. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 736-741.
- Ergomix. (2012). *Enzimas en la alimentación animal*. Obtenido de  
<https://www.engormix.com/avicultura/articulos/enzimas-alimentacion-animal-t29447.htm>
- Estrada, M., & Márquez, S. (2006). Interacción de los factores ambientales con la respuesta del comportamiento productivo en pollos de engorde. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*, 246-257.
- FAO. (2 de Octubre de 2018). *OCDE-FAO perspectivas agrícolas 2017-2026*. Obtenido de OCDE-FAO perspectivas agrícolas 2017-2026: <http://www.fao.org/3/a-BT089s.pdf>
- Farhadi, D., Karimi, A., Sadeghi, G., Rostamzadeh, J., & Bedford, M. (2017). Effects of a 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*, 1-12.  
 doi:<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex186>
- Giannenas, I., Papaneophytou, C., Tsalie, E., Pappas, I., Triantafillou, E., Tontis, D., & Kontopidis, G. (2014). Dietary Supplementation of Benzoic Acid and Essential Oil Compounds Affects Buffering Capacity of the Feeds, Performance of Turkey Poults and Their Antioxidant Status, pH in the Digestive Tract, Intestinal Microbiota and Morphology. *Asian-Australas J Anim Sci*, 225-236.
- González, E. (2013). *Análisis de la situación actual del consumo de pollo certificado frente al blanco en Navarra*. Navarra: Universidad Pública de Navarra.
- Graham, H., & Cordero, G. (2016). La aplicación de “superdosing” de fitasa para maximizar la eliminación del fitato en la dieta. *Avinew*, 104-109.

- Granda, V. (2012). Formulacion de una dieta óptima para la bioconversión de la pasta residual de Piñón (*Jatropha curcas*) con enzimas fibrolíticas. *Ingeniería en Biotecnología*, 28.
- Greiner, R. (2002). Purification and characterization of three phytases from germinated lupine seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6858-6864.
- Greiner, R., & Konietzny, U. (2006). Phytase for Food Application. *Food Technology- Biotechnology*, 125-140.
- Hara, H., Ohyama, S., & Hira, T. (2000). Luminal dietary protein, not amino acids, induces pancreatic protease via CCK in pancreaticobiliary-diverted rats. *Am.J.Physiol.Gastrointest.Liver*, 937-945.
- Hargis, B. M. (2016). *Veterinary Manual*, 11. Obtenido de <http://www.msddvetmanual.com/poultry/miscellaneous-conditions-of-poultry/ascites-syndrome-in-poultry>
- Hassanzadeh, M., Buyse, J., Toloei, T., & Decuypere, E. (2014). Ascites syndrome in Broiler Chickens: A review on the aspect of endogenous and exogenous factors interactions. *Japan Poultry Science Association*(51), 229-241.
- Heubner, W., & Stadler, H. (1914). Über eine Titration-methode zur Bestimmung des Phtytins. *Biochemische Zeitschrift*, 432-437.
- INEC. (2015). [www.ecuadorencifras.gob.ec](http://www.ecuadorencifras.gob.ec). Obtenido de [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac\\_2014-2015/2015/Presentacion%20de%20resultados%20ESPAC\\_2015.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2014-2015/2015/Presentacion%20de%20resultados%20ESPAC_2015.pdf)
- International union of pure and applied chemistry. (1968). The nomenclature of cyclitols. *European Journal of Biochemistry*, 1-12.
- Isaacs, R., & Harkness, D. (1980). Erythrocyte Organic Phosphates and Hemoglobin Function in Birds, Reptiles, and Fishes. *Amer. Zool*, 20:115-129.
- Julian, R. (1987). The effect of increased sodium in the drinking water on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in broiler chickens. *Avian Pathology*, 1(16), 61-71.
- Lassen, F., Breinholt, J., Ostergaard, P., Brugger, R., Brigger, R., Bischoff, A., & Wyss, M. (2001). Expression, gene cloning, and characterization of five novel phytases from four basidiomycete fungi: *peniphora lycii*, *Agrocybe pediades*, *Ceriporia* sp, and *trametes pubescens*. 4701-4707.

- Lasztity, R., & Lasztity, L. (1990). Phytic acid in cereal technology. *Advances in Cereal Science and Technology* 10, 309-331.
- Leslie, M. A. (2006). Effect of Phytase and Glucanase, alone or in combination, on nutritive value of corn and soybean meal fed to broilers. Auburn, Alabama.
- Leunga, K.-Y., Millsb, K., Burrena, K., Copp, A., & Greene, N. (2011). Quantitative analysis of myo-inositol in urine, blood and nutritional supplements by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2759-2763.
- Liang, Y., Pan, L., & Lin, Y. (2009). Analysis of extracellular proteins of *Aspergillus oryzae* grown on soy sauce koji. *Biosci.Biotechnol.Biochem*, 192-195.
- López, C. (1994). *Técnica Pecuaria* . Recuperado el 2017, de <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/200607043084.pdf>
- Lott, J., Ockenden, I., Raboy, V., & Batten, G. (2000). Phytic acid and phosphorus in crop seed and fruits: a global estimate. *Seed Science Research*, 11–33.
- Lott, J., Ockenden, I., Raboy, V., & Batten, G. (2000). Phytic acid and phosphorus in crop seed and fruits: a global estimate. *Seed Science*, 11-33.
- M. B., & G. P. (2010). *Enzymes in farm animal nutrition, 2nd edition*. Londo UK: CAB International.
- Maenz, D. (2001). Enzymatic and other characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds. *CABI Publishing*, 12-13.
- Maga, J. (1982). Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of significance. *Joornal of agriculture and food chemistry*, 1-9.
- Manobhavan , M., Elangovan , A., Sridhar, M., Shet, D., Ajith, S., Pal, D., & Gowda , N. (2015). 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*, 93-100. doi:10.1111/jpn.12341
- Martínez, M., Castro, M., Ayala, L., Castañeda, S., Achang, J., & Almeida, M. (2009). *Revista Cubana de ciencia Agrícola* . Obtenido de Efecto de una fitasa microbiana, procedente de la levadura *Pichia pastoris*, en el comportamiento: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193015425011.pdf>
- Martinez, R., & Sanz, A. (05 de Febrero de 2013). *DSM Nutritional Products*. Recuperado el 02 de Abril de 2017, de

<https://onedrive.live.com/view.aspx?cid=F53FB0558E0C38B8&authKey=%21AhuxnzpLSF5CzdE&resid=F53FB0558E0C38B8%212049&canary=J2kOUsfuzrapGiEh7FbLDlxTHjCVVIfMwRQgAyIntng%3D7&ithint=%2Epdf&open=true&app=WordPdf&wdo=1>

- Martínez, R., & Sanz, A. (1 de Abril de 2017). *Selecciones avícolas*. Obtenido de Selecciones avícolas: <http://seleccionesavicolas.com/avicultura/2012/09/enzimas-en-alimentacion-aviar-novedades-y-aplicacion-practica>
- Menezes, D., Gabler, S., & Greiner, R. (2015). Performance of Seven Commercial Phytases in an in Vitro Simulation of Poultry Digestive Tract. *icultural and Food Chemistry*, A-H.
- Monroy, L., & Hernández, A. (2013). Suceptibilidad a la hipoxia hipobárica en una estirpe comercial del pollos de engorde. *Rev. Med. Vet. Zoot., II(60)*, 86-99.
- Morisset, J. (2008). Negative control of human pancreatic secretion:Physiological mechanisms and factors. 37.
- Mullaney, E., & Ullah, A. (2003). The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 179–184.
- Mullaney, E., & Ullah, A. (2003). The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 179–184.
- N. M., & W. T. (2013). Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry current knowledge and directions for future research. *Department of Animal Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada*, 9-21.
- Nagashiro, C. (2007). Actualidad del Uson de enzimas en la nutrición de Aves . *DMS nutritional products*, 1-55.
- NutriNews. (2014). Uso de enzimas en la alimentación animal. Un proceso de innovación. *Nutrición Animal* , 1-2.
- Ocampo R., J., Vásquez C., M., Cueva M., S., Ayón S., M., Lira M., B., Rodriguez G., J., & Falcón P., N. (20102). Valores eritrocíticos, presión arterial pulmonar y peso del ventrículo derecho en pollos parrilleros de dos líneas comerciales bajo crianza intensiva a nivel del maR. *Rev Inv Vet Perú*, 4(23), 406-413.
- Orellana, J. (2013). Análisis de la Avicultura Ecuatoriana. *El Agro(207)*, 26-30.
- Paredes, M. (2010). Factores causantes del síndrome ascítico en pollos de engorde. *Sirivs*, 1-4.
- Phillippy, B. Q., & Johnston, M. R. (1985). Determination of phytic acid in foods by ion chromatography with post-column derivatization. *Journal of Science* 50, 541-542.



- Ptak, A., Bedford, M., Świątkiewicz, S., Żyła, K., & Józefiak, D. (2015). Phytase Modulates Ileal Microbiota and Enhances Growth Performance of the Broiler Chickens. *Plos One*, 1-15.
- Quiles, A. (2005). Papel de las fitasas en la alimentación porcina. *Departamento de Producción Animal .Universidad de Murcia* , 1-9.
- Quiles, A. (s.f.). *Papel de las fitasas en la alimentacion porcina*. Recuperado el 02 de abril de 2017, de Axon Veterinaria. net:  
[http://axonveterinaria.net/web\\_axoncomunicacion/criaysalud/5/cys\\_5\\_fitajas.pdf](http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/5/cys_5_fitajas.pdf)
- Rodriguez Saldaña, D. F. (2016). *Efecto de Superdosis de Fitasa Microbiana sobre los niveles de oxígeno en sangre y parámetros productivos de pollos machos cobb 500 a 2664 msnm*. Universidad Central del Ecuador.
- Rounds, M., & Nielsen, S. (1993). Anion-exchange high-performance liquid chromatography with post-column detection for the analysis of phytic acid and another inositol. *Journal of chromatography*, 148-152.
- Scheele, C. W., De Wit, W., Frankenhuys, M. T., & Vereijken, P. F. (1991). Ascites in broilers. 1. Experimental factors evoking symptoms related to ascites. *Poultry Science*, 5(70), 1069-1083.
- Selle, P., & Ravindran, V. (2006). Microbial phutase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 1-41.
- Selle, P., & Ravindran, V. (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 1-41.
- Serrano-Ríos, M. (2005). Alimentos probióticos.Importancia de la viabilidad de bacterias . *Alimentación funcional* , 1-35.
- Shafey, T., McDonald, M., & Dingle, J. (1991). Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on the availability of calcium, iron, magnesium and zinc from the intestinal contents of meat chickens. *British Poultry Science*, 185-194.
- Silva, M. R., & Da Silva, M. P. (1999). Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Revista de Nutrição Campiñas*, 5-19.
- Simons, P., Versteegh, H., Jongbloed, A., Kemme, P., Slump, P., & Bos, K. (1990). Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition* 64, 525-540.

- Stahl, C., Roneker, K., Pond, W., & Lei, X. (2004). Effects of combining three fungal phytases with a bacterial phytase on plasma phosphorus status of weanling pigs fed a corn-soy diet. *Journal Animal Science*, 1725-1731.
- Sweazea, K., & Braun, E. (2006). Glucose transporter expression in English sparrows (*Passer domesticus*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.*, 1-32.
- Swick, R. A., & Ivey, F. J. (1992). Phytase: the value of improving phosphorus retention. *Feed Management* 43, 7-17.
- Torres, M., Rodriguez, A. R., & Saura, F. (1991). Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-22.
- Van Ertens, R., Davidson, R., Stevis, P., MacArthur, H., & Moore, D. (1991). Covalent Structure, Disulfide Bonding, and Identification of Reactive Surface and Active Site Residues of Human Prostatic Acid Phosphatase. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 2313-2319.
- Villar, J., Puigbò, P., & Riera, M. (2003). Analysis of highly phosphorylated inositols in avian and crocodilian. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 169-175.
- Walk, C., Bedford, M., & McElroy, A. (2012). Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. *Poultry Science*, 1371-1378.
- Woyengo, T., & Nyachoti, C. (2012). Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry-current knowledge and directions for future research. *Department of Animal Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada R3T 2N2.*, 9-11.
- Woyengo, T., & Nyachoti, C. (2013). Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry-current knowledge and direction for future research. *Can.J.Anim.Sci*, 9-13.
- Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Remy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., . . . van Loon, A. (1999). Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties. *Applied and Environmental Microbiology*, 367-373.
- Yang, F., Cao, H., Xiao, Q., Guo, X., Zhuang, Y., Zhang, C., . . . Liu, P. (2016). Transcriptome analysis and gene identification in the pulmonary artery of broilers with Ascites syndrome. *PLoS ONE*, 11(6), 1-19. *PLOS ONE*, 6(11), 1-19.  
doi:<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0156045>

- Young, S., & Greaves, J. (1940). Influence of variety and treatment on phytin content of wheat. *Journal of food Science* , 6-103.
- Yu, S., Cowieson, A., Gilbert, G., & Plumstead, P. (2012). Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin1. *American Society of Animal Science.*, 1824–1832.
- Zhang, H., Wu, C., Chamba, Y., & Ling, Y. (2007). Blood Characteristics for High Altitude Adaptation in Tibetan Chickens. *Poultry Science*(86), 1384-1389.
- Zhou, J., & Erdman, J. (1995). Phytic acid in health and disease. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 495-508.
- Zyla, K., Ledoux, D., & Veum, T. (1995). Complete Enzymic Dephosphorylation of Corn-Soybean Meal Feed under Simulated Intestinal Conditions of the Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 288–294.