



11674

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y SALUD
ANIMAL

FES-Coautitlan

"DIGESTIBILIDAD APARENTE DE NUTRIENTES EN CERDOS
ALIMENTADOS CON DIETAS ADICIONADAS CON FITASAS"

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Gisela García Bautista

TUTOR:

José A. Cuarón Ibarquengoytia

COMITÉ TUTORAL:

Gerardo Mariscal Landín

Sergio Fernández Tinoco

Santiago de Querétaro, Qro

2005

m. 345232



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mi mamá, por que con su cariño, apoyo y dedicación me ha enseñado a luchar por cada una de mis metas. Por darme el mejor ejemplo como madre y mujer emprendedora.

A Noé y Bernardo, ya que juntos logramos esta meta. A tí amor, por la paciencia, cariño y apoyo que me has brindado para alcanzar esta meta. A ti hijo por ser el mejor estímulo para culminar este trabajo.

A mis hermanos Felipe y Fulgencio por el gran apoyo que siempre me han brindado

A mis tíos Tere y Nacho, por brindarme siempre su apoyo en los momentos buenos y malos.

Al Dr. José A. Cuarón por brindarme y a mi familia su amistad y por enseñarme como afrontar cada reto profesional y personal.

A Demián Fernández, por que tuvimos la fortuna de encontrar un amigo como pocos que siempre nos ha brindado su apoyo incondicional en cada etapa buena y mala dentro y fuera del Posgrado.

A mis amigos Juan Bravo, Jaime Parra, Mayela Cordero, José Luis Meza, Victo Pérez, Celia, Nora, Juanita, Ariadna y a todos los que me apoyaron para culminar este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM.

Al Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias.

Al Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México A.C

Al IAZ. Carlos Dobler por prestar sus instalaciones y animales para la elaboración de esta Tesis y al MVZ Carlos Urbano por la ayuda que me brindo.

A DSM Nutritional Products México SA de CV.

Al Dr. Sergio Fernández y Dr. Jorge Cervantes por todo su apoyo.

A la Dra. Socorro Correa y Dr. José Luis Romano por todo su apoyo y amistad

A Leticia Jiménez por ayudarme en cada uno de los trámites administrativos y por brindarme su amistad.

A la Química Erica Ramírez y a Don José Martínez por la ayuda prestada durante el análisis de las muestras de este trabajo.

Al Honorable Jurado:

Dr. Gerardo Mariscal Landín

Dr. Sergio Fernández Tinoco

Dr. Germán Borbolla Sosa

Dr. José Antonio Rentería Flores

Dr. José Antonio Cuarón Ibarquengoytia

RESUMEN

Se condujeron dos experimentos consecutivos para evaluar los efectos de fitasas en la digestibilidad de N, P, Ca y energía (E) en dietas sorgo y sorgo-canola. En el primero (Exp1), se usaron 48 cerdos (inicialmente 35 kg), con alimentación "pareada" para comparar la respuesta a dos enzimas: de *A. niger* (500U/kg) y *P. lyccii* (750U/kg). En el segundo (Exp2), se usaron 40 cerdos (inicialmente 40 kg) alimentados a libre acceso, cuando los Tratamientos fueron: 1, 3.30 Mcal EM/kg y 0.80% de lisina digestible, 0.60% de Calcio y 0.25% de Fósforo disponible (Pd); 2, 3.16 Mcal EM/kg, 0.80% de lisina digestible, 0.50% de Calcio y 0.15% de Pd; 3, 4 y 5, como 2, pero con la adición de 250, 500 y 750U/kg de Fitasa. Se colectaron heces por 3 (Exp1) o 5 días (Exp2) después de 2 y 5 semanas de haber inducido las dietas experimentales. En el Experimento 3 (Exp3), se usaron 265 cerdos (peso inicial, 30 kg), para medir la respuesta a 3 Tratamientos: 1, dieta convencional; 2, como 1, con 300 g/ton de Fitasa, restando 0.1 unidades % de Pd y 3, como 2, pero reduciendo EM en 80kcal/kg. Se midieron: consumo de alimento, ganancia de peso, eficiencia alimenticia, composición corporal y la excreción de nutrientes. Independiente del tipo y cantidad de la enzima o de la dieta, las fitasas mejoraron la digestibilidad aparente de Ca, P y E ($P < 0.05$), liberándose hasta 100 kcal de EM/kg. La adición de Fitasa tuvo un efecto lineal positivo en la digestibilidad ($P < 0.01$). En el Exp3, se pudieron constatar los efectos de la enzima en la liberación de energía. Conclusión: las fitasas mejoran la disponibilidad de Ca, P y E, lo que permite aumentar la precisión en el aporte de nutrientes por la dieta y reducir la carga contaminante al ambiente.

Palabras claves: digestibilidad, cerdos, enzimas, fitasa, fósforo, energía

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of microbial phytase of *Aspergillus niger* (AN) or *Pheniophora lycii* (PL) on the apparent digestibility of Ca, P, N and energy in diets for pigs. Three experiments were conducted using a total of 353 growing pigs. In Exp 1, the sorghum-canola meal and sorghum basal diet (BD) contained no supplemental inorganic P. Forty eight pigs (36.2 ± 4.0 kg) were fed BD + AN at 500 U/kg of feed or BD + PL at 750 U/kg of feed. In Exp2, forty growing pigs were assigned randomly to five treatments: 1, 3.30 Mcal ME/kg, 0.80% dig lys, 0.60% Ca and 0.25% available phosphorus (aP); 2, 3.16 Mcal ME/kg, 0.80% dig lys, 0.50% Ca and 0.15% aP; treatments 3, 4 and 5 were as 2, but supplemented with 250, 500 and 750U phytase from PL, respectively. After feeding the Exp. Diets for 2 and 5 weeks, in both experiments, feces were collected for 3 (Exp1) or 5 days (Exp2). In Exp 3, 265 pigs (31.8 ± 1.9 kg) were used in a performance trial. Pigs were randomized to three treatments: 1, control diet; 2, as 1, plus 750 U phytase from PL, reducing aP by 0.1 units and Treatment 3, as 2, plus a reduction of ME equivalent to 80kcal/kg of diet. Average daily gain, average daily feed intake, gain:feed ratio and losses of nutrients in manure were measured. Overall, dietary inclusion of phytase improved availability of Ca, P and energy ($P < 0.05$); the enzyme had a positive lineal effect on nutrients digestibility ($P < 0.01$); it was calculated that ME of diet could be reduced by 100 kcal/kg in diets for pigs fed diets containing phytase. Reducing dietary P and (or) energy (Exp 3), did not result in reduced pigs' performance in the presence of phytase. In conclusion, phytase improved Ca, P and energy digestibility of dietary ingredients, thus reducing P and N excretion.

Key words: phytase, digestibility, pigs, phosphorus, calcium, energy

CONTENIDO

Resumen

Abstract

1. Introducción	1
2. Revisión de Literatura	4
2.1 Uso de enzimas en la Nutrición Animal	4
2.2 Ácido fitico como un factor antinutricional	6
2.3 Fitasas	10
2.4 Definición de digestibilidad	13
3.0 Objetivo general	15
3.1 Objetivos particulares	15
4.0 Hipótesis	15
5.0 Material y Métodos	16
5.1 Dietas y manejo general	16
5.2 Manejo específico	19
5.2.1 Experimento 1 y 2	19
5.2.2 Experimento 3	21
6.0 Análisis estadísticos	23
7.0 Resultados	25
7.1 Experimento 1	25
7.2 Experimento 2	26
7.3 Experimento 3	28
8.0 Discusión	29
9.0 Conclusiones	38
10.0 Literatura Citada	48

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Contenido de fósforo total, disponible y fítico en ingredientes usados en dietas de cerdos.	9
Cuadro 2. Composición de las dietas del Experimento 1	40
Cuadro 3. Composición de las dietas del Experimento 2.	41
Cuadro 4. Composición de las dietas del Experimento 3.	42
Cuadro 5. Digestibilidad fecal aparente en dietas basadas en sorgo Experimento 1.	43
Cuadro 6. Digestibilidad fecal aparente en dietas basadas en sorgo-canola Experimento 1.	43
Cuadro 7. Excreción de fósforo en heces en dietas con sorgo Experimento 1.	43
Cuadro 8. Excreción de fósforo en heces en dietas con sorgo-canola Experimento 1.	44
Cuadro 9. Coeficientes de digestibilidad fecal aparente de las dietas Experimento 2.	44

Cuadro 10. Nutrientes Calculados Experimento 2.	44
Cuadro 11. Comportamiento productivo por 42 días en el Experimento 2.	45
Cuadro 12. Composición corporal de los cerdos al final del Experimento 2.	45
Cuadro 13. Comportamiento productivo del ensayo (70 días) Experimento 3.	46
Cuadro 14. Composición corporal al final del ensayo (70 días) Experimento 3.	46
Cuadro 15. Composición mineral de excretas Experimento 3.	47

1. INTRODUCCION.

La industria de alimentos balanceados para animales ha hecho uso de aditivos, probióticos y enzimas, obteniendo de estos productos de manera individual o conjunta beneficios para el cerdo, ya sea incrementando y/o favoreciendo el consumo del alimento o bien mejorando la digestibilidad de nutrientes con lo cual se disminuye la descarga de contaminantes (como nitrógeno, fósforo, calcio, etc.) al medio ambiente.

Los cerdos producen enzimas que les permiten digerir los alimentos que consumen (Hernández, 1998), sin embargo, carecen de la producción de otras que son necesarias para llevar acabo de manera completa y eficiente la digestión de diversos compuestos estructurales de ingredientes vegetales, algunos ejemplos de ello son: la fitasa, la cual es necesaria para que el animal aproveche el fósforo que se encuentra unido al ácido fítico; la xilanasas, que ayudan a la hidrólisis de carbohidratos estructurales de los compuestos vegetales (Kemme et al., 1998). Las enzimas se definen como proteínas complejas con poder catalítico, que facilitan las reacciones químicas en los microbios, plantas y animales (Morgan, 1995). Estas enzimas juegan un papel importante en la digestión rompiendo macromoléculas que no pueden ser absorbidas como tales transformándolas en pequeñas moléculas absorbibles. Las enzimas pueden ser clasificadas como endógenas o exógenas, dependiendo si son producidas por el animal o bien si son adicionadas en el alimento. Cada enzima se nombra de acuerdo al sustrato que desdobla, por ejemplo la amilasa desdobla el almidón, la lipasa a los lípidos, la lactasa actúa sobre la lactosa, etc (Ganong, 1980). Estas moléculas requieren de condiciones específicas, como son temperatura, pH y humedad, para que lleven a cabo su actividad sobre el sustrato específico (Cousins, 2001).

En el mercado mexicano se ha incrementando el uso de enzimas exógenas desarrolladas por procesos biotecnológicos con la finalidad de incrementar la disponibilidad de algunos minerales como es el caso del fósforo, que de manera natural sería mínima o nula, disminuyendo así la inclusión de este mineral en las dietas. La disponibilidad del fósforo en los principales ingredientes usados en la fabricación de alimentos balanceados para cerdos como son los cereales y subproductos de oleaginosas (p. ej: sorgo o maíz, pastas de soya o canola) es baja, debido a que una gran proporción del mismo se encuentra en forma de complejos inorgánicos denominados fitatos, lo cual disminuye el aprovechamiento del fósforo y de otros nutrimentos (como minerales, energía y aminoácidos). Un ejemplo de una enzima desarrollada biotecnológicamente es la fitasa, la cual es producida por hongos y otros microorganismos como bacterias, su función principal es hacer disponible el fósforo, a partir del ácido fitico, así como a otros nutrientes como aminoácidos, carbohidratos y otros minerales como calcio y zinc que se encuentran unidos a este complejo (Palluaf and Rimbach,1997).

Las aves y cerdos, a diferencia de los rumiantes, carecen de los microorganismos en el intestino delgado y grueso que produzcan la fitasa por lo que es necesario adicionar niveles mayores de fósforo a la dieta para cubrir los requerimientos de los animales. Sin embargo, la suplementación de este mineral no solo encarece las dietas, sino que también incrementa la excreción de fósforo en las deyecciones de los cerdos. La presencia de fitasa en el tubo digestivo mejora la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, la efectividad del uso de la enzima debe medirse fundamentalmente en función de la liberación de fósforo y luego de la liberación de otros nutrientes y elementos aniónicos como el zinc y calcio.

En la actualidad existe mucha información con relación a los beneficios de esta enzima sobre alimentos basados en maíz y pasta de soya. Sin embargo, son pocos los conocimientos que se tiene sobre los beneficios sobre el grano de sorgo, el cual es el cereal predominante en las dietas de cerdos en México, y en la pasta de canola, la cual contiene una buena cantidad de fósforo, cerca del 1% (Bell et al., 1989; NRC,1998). Así mismo, la investigación que se ha realizado sobre los beneficios aditivos de la enzima en la digestibilidad de proteína y energía es escasa.

Este trabajo por lo tanto, fue propuesto para determinar el efecto de dos fuentes de fitasa (*Aspergillus niger* y *Peniophora lycii*), sobre la digestibilidad aparente del fósforo, proteína y energía de la pasta de canola y el grano de sorgo, así como sus consecuencias en la formulación de raciones completas para cerdos durante las etapas de crecimiento y hasta la finalización.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Uso de enzimas en Nutrición Animal

La adición de enzimas específicas en las dietas de los cerdos permite incrementar la actividad enzimática del animal así como el introducir enzimas que no existen en el aparato digestivo de esta especie (Cousins, 2001).

Las enzimas se encuentran formando parte de todos los sistemas biológicos ya que son necesarias para que se lleven a cabo diversas reacciones químicas dentro del organismo, para ello actúan como catalizadores biológicos, ya que en condiciones normales, dichas reacciones solo tendrían lugar muy lentamente, o no se producirían en absoluto. Estas proteínas con acción catalítica hacen posible ante todo una sucesión ordenada de reacciones químicas en los sistemas biológicos. Las enzimas no se consumen durante las reacciones catalíticas, es decir, vuelven a su estado original. La cantidad necesaria de enzimas es muy pequeña en proporción con la cantidad de sustrato. Cada reacción requiere de su enzima específica (Bühler et al., 1998). Las enzimas se producen a partir de microorganismos, plantas y animales. Una característica importante de ellas es que son inocuas, es decir, que después de llevar a cabo su función se digieren como las demás proteínas, sin dejar residuos en heces y orina, por lo que no es necesario esperar cierto tiempo para sacrificar a los animales alimentados con raciones adicionadas con enzimas.

La eficacia de las enzimas está influenciada por las condiciones existentes en el lugar de acción, como son el pH, temperatura, contenido de agua, presencia de activadores o inhibidores y concentración del sustrato (Copeland, 1996).

Las enzimas se caracterizan por su elevada especificidad, es decir, tienen la capacidad de discriminar entre dos sustratos competitivos. Las enzimas usadas en nutrición animal tienen que adaptarse a las condiciones existentes en el tubo digestivo de los animales y deben de actuar en presencia del pH ácido del estómago, o resistir el pH gástrico y el efecto proteolítico de la pepsina gástrica para poder ejercer su efecto en los tramos intestinales del tubo digestivo (Copeland, 1996).

Existen diferentes tipos de sustratos sobre los cuales actúan las enzimas que comercialmente se producen:

1. Sustratos para los cuales el animal sintetiza enzimas en el tubo digestivo y son fáciles de digerir.
2. Sustratos para los cuales no se producen las enzimas necesarias y cuya digestibilidad es muy baja, como es el caso de la celulosa.
3. Sustratos en donde no hay la presencia de las enzimas y además poseen efectos antinutricionales como el fitato, glucanos, etc. En este grupo los efectos negativos se observan en la disminución de la absorción de nutrientes en el intestino, ya sea por que forman complejos, con ellos o simplemente porque forman un límite físico al actuar con las enzimas, lo cual conlleva a una menor digestibilidad asociada a aumentos probablemente en la viscosidad de la ingesta, lo que reduce la solubilidad de las enzimas, sustratos y productos (Bühler et al., 1998).

La producción industrial de enzimas se realiza principalmente a partir de hongos y bacterias. Las enzimas microbianas son en este

sentido más estables que las de origen vegetal y animal. Se emplean para su obtención cepas de hongos y bacterias capaces de acelerar la multiplicación y elevar el rendimiento de la biosíntesis a fin de lograr una mayor concentración de enzimas.

El grupo más grande de microorganismos productores de enzimas lo constituyen los hongos, especialmente los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Humicola* y *Trichoderma*. (Bühler et al., 1998). Entre las bacterias manipuladas para producir enzimas, tenemos al género *Bacillus*, el cual se utiliza para la obtención de alfa-amilasas y proteasas, aunque también se utilizan para obtener β -glucanasas y xilanasas.

Las enzimas se utilizan en varios campos como son: diagnóstico y tratamiento médico, industria papelera y textil, en productos cosméticos y en el área de nutrición humana y animal. En la industria de alimentos para animales, las enzimas ayudan a contrarrestar los efectos negativos de factores antinutricionales como es el caso del ácido fitico.

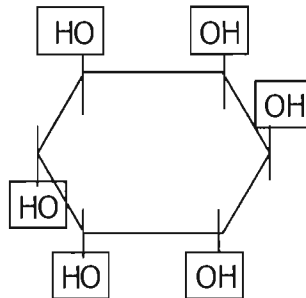
2.2. Ácido fitico como un factor antinutricional.

Los factores antinutricionales son sustancias que tienen efectos negativos sobre el comportamiento productivo de los animales. Los cereales o subproductos de oleaginosas (maíz o sorgo, pastas de soya o canola) usados en la formulación de alimento para cerdos, contienen factores antinutricionales. Uno de ellos es el ácido fitico, que hace poco disponible al fósforo y otros elementos nutritivos en los ingredientes (Lott et al., 2000; Kerovou, 2000)

El ácido fitico se encuentra formado por una molécula de inositol (Fig 1), la cuál es un anillo de 6 carbonos, unido a grupos

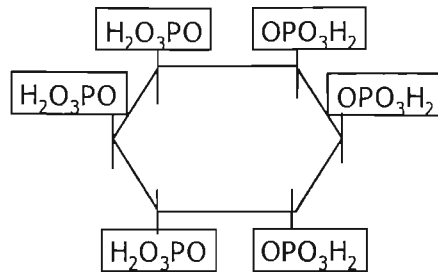
ortofosfato mediante enlaces ester, denominado también como fosfato de inositol. Químicamente, se define como una molécula de mio-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakis dihidrógeno fosfato, el cual contiene alrededor del 28% de fósforo, además de tener afinidad variable por cationes y aminoácidos (Fig. 2). Los fiítatos son sales del ácido fítico con distintos cationes, así la fitina es la sal de ácido fítico con los cationes de calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre y manganeso (Pallauf and Rimbach, 1997).

Fig. 1 Molécula de Inositol



Uzen et al., 1990

Fig 2. Ácido fítico



Pallauf and Rimbach, 1997

El fosfato de inositol más abundante en los ingredientes habitualmente usados en las dietas para animales es el inositol 6 fosfato, el cual representa de un 70 a un 80 % del fósforo total en los cereales. Siendo menor la presencia de fosfato 5 y fosfato 4 (Lott et al., 2000)

El ácido fítico es un componente esencial en todas las semillas ya que es una la reserva de fósforo, minerales y energía, los cuales se liberan durante la germinación (Lott et al., 2000). En la mayor parte de las plantas monocotiledóneas, se acumula en las capas de la aleurona y pericarpio (entre el 80 y 90%), en el caso del maíz y sorgo se localiza en el germen. En las leguminosas se concentran en los cotiledones y en las oleaginosas se distribuyen de manera difusa por toda la semilla, asociándose a los cuerpos globulares ricos en proteína. Esta presente en los alimentos en concentraciones muy variadas (Cuadro 1). El ácido fítico presenta carga negativa y actúa dentro de un rango de pH amplio, lo cual lo hace muy reactivo con las moléculas cargadas positivamente como es

el caso de algunos minerales, disminuyendo su disponibilidad y absorción en el intestino delgado (Thompson, 1993).

Cuadro 1. Contenido de Fósforo (P) total, disponible y fitico en ingredientes usados en las dietas de cerdos

Ingrediente	P total ^a , %	P disponible ^a , %	P fitico ^b , %
Maíz	0.28	0.04	0.24
Sorgo	0.29	0.06	0.23
Pasta de soya	0.65	0.20	0.45
Pasta de canola	1.01	0.21	0.80

^a NRC, 1998; ^b Datos adaptados de Ravindran, 1999

Los efectos negativos del ácido fitico dependen de la concentración de esta molécula en el ingrediente, el tipo de enlace que forma con otros minerales, el procesamiento al que es sometido el alimento, la presencia de otro mineral, y la presencia de fitasa endógena o exógena (Thompson, 1993).

El ácido fitico presenta varias características que hacen que se considere como un factor antinutricional. La principal característica, es que el fósforo presente en él se caracteriza porque es poco disponible para aves y cerdos, ya que el organismo animal carece de la enzima precisa para romper y separar el fósforo de la molécula de inositol. La mayor parte del fósforo que no es absorbido por el animal se excreta en las heces lo cual incrementa el problema de contaminación ambiental. Otra característica es la capacidad de quelar metales, lo cual favorece la formación de sales insolubles con numerosos cationes di y trivalentes como son el calcio, magnesio, zinc, cobre, hierro y manganeso, impidiendo su absorción a nivel intestinal (Kerovou, 2000).

El ácido fítico también puede formar complejos insolubles con proteínas. Esta unión es de tipo iónico y es dependiente del pH, ya que en un pH ácido, esta molécula se une a la región básica del aminoácido (grupo amino) de la lisina, arginina e histidina disminuyendo así la solubilidad, digestibilidad y funcionalidad de la proteína. A pH neutro, esta unión se solubiliza lo cual hace que la proteína se neutralice y por lo tanto se inhibe la unión al fitato. En pH básico, el fitato forma complejos con la proteína en presencia de cationes bivalentes que actúan como un puente entre el grupo carboxilo y el fitato. También se ha visto un efecto negativo sobre la actividad enzimática de la alfa-amilasa, lo cual se debe probablemente a la naturaleza de los complejos proteína-fitato o bien por la inhibición por efecto de la quelación de los iones de calcio, los cuales son necesarios para la actividad de las enzimas endógenas (Kornegay, 1999; Anderson, citado por Rebollar y Mateos, 1999; Cousins, 2001). Por estas razones, es necesario buscar alternativas para disminuir el efecto negativo de los factores antinutricionales, dentro de estas se puede mencionar la suplementación del alimento con enzimas.

2.3. Fitasas

Las fitasas son fosfatasas ácidas que catalizan el proceso de hidrólisis del ácido fítico liberando de forma secuencial hasta 6 grupos ortofosfatos, haciéndolos altamente disponibles para los animales (Gibson y Ullah citado por Rebollar y Mateos, 1999).

Existen diferentes fuentes de fitasa, estas se encuentran de manera natural en cultivos de hongos o bacterias, o bien en el tracto intestinal, ya sea por ingestión o por la producción endógena. A continuación se describen cada una de ellas:

1. Fitasas endógenas intestinales: La actividad fitásica en la mucosa intestinal es reducida. En el caso del cerdo, las fosfatasa intestinal solo son capaces de hidrolizar las moléculas de inositol fosfato de escaso número de iones de ortofosfato, dando lugar a un inositol libre (Jongbloed et al., 1990; Kemme et al., 1997)
2. Fitasas propias de los ingredientes: Este tipo de enzimas son muy variables, ya que dependen del tipo de materia prima y de factores ambientales. Estas enzimas desfosforilan en su totalidad la molécula del mioinositol. Requieren de un pH entre 4 y 7.5 y una temperatura entre 45 y 60°C. Son altamente susceptibles a cambios en el ambiente y poco eficientes para liberar el fósforo inorgánico necesario para cubrir las necesidades de los cerdos (Jongbloed et al., 1990; Lott et al., 2000)
3. Fitasas microbianas producidas por la microbiota digestiva: Estas fitasas son del tipo 3, es decir, aquellas que inician la hidrólisis de los fitatos a nivel del carbono 3 del anillo de mioinositol. Esto se lleva a cabo en el intestino grueso. Sin embargo, este mineral será excretado por heces y no absorbido por el animal (Kemme et al., 1998).
4. Fitasas microbianas producidas industrialmente: Estas enzimas pueden ser de origen fúngico o bien bacteriano, producidas bajo condiciones naturales o de laboratorio. Las fitasas de origen bacteriano son de naturaleza intracelular y requieren de un pH neutro o alcalino, por lo que se reduce el interés como aditivo en los alimentos para animales. Las enzimas de origen fúngico son de origen extracelular y el pH en el cual actúan es amplio y depende del hongo del que provengan así por ejemplo las producidas por *Aspergillus*, requieren de un

pH entre 2.5 y 7.5 y son fitasas las cuales tienen como sustrato principal el inositol fosfato 6 (Kemme et al., 1998).

Existen diferentes factores que influyen sobre la eficacia de la fitasa entre ellos el principal es el pH del tracto digestivo y otros como el tiempo de permanencia del alimento en el tracto digestivo y el contenido de la materia seca también afectan la eficacia (Rebollar y Mateos, 1999). La actividad enzimática de la Fitasa se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de fosfato inorgánico por minuto a partir de 0.0051 moles de fitato de sodio a un pH de 5.5 y una temperatura de 37°C. Estas condiciones permiten expresar al máximo la actividad enzimática de las diferentes fitasas (Pallauf and Rimbach, 1997 y Bühler et al., 1998).

Las primeras preparaciones comerciales de Fitasa eran sintetizadas a partir de hongos del tipo *Aspergillus*. Sin embargo recientemente se han sintetizado a partir del genero *Peniophora lycci* (Mojica, 2001)

Las enzimas producidas por el género de *Peniophora lycci* requieren de ciertas condiciones para tener una adecuada actividad enzimática, estas son un pH entre 3.5 y 5.5 y un rango de temperatura entre 35 y 55°C. Ambas condiciones son muy similares a las que se pueden encontrar en el tracto digestivo de monogástricos (Mojica, 2001; Campell y Wilson, 2003).

La principal función de la fitasa es la de utilizar el fósforo que se encuentra unido al ácido fitico y fiitatos, esta acción la que ejerce en la etapa de la germinación de la semilla, momento en donde se requiere de mayor cantidad de fósforo para el adecuado desarrollo de la planta (Mojica, 2001).

Estudios realizados en animales sacrificados o fistulados ha demostrado que sin importar el origen de la fitasa (vegetal o fúngica) el sitio de acción de la enzima es el estómago (Mroz et al., 1994; Kemme et al., 1998 y Jongbloed et al., 1992) y en grado mínimo en el intestino delgado. Lo que contrasta con el intestino grueso donde la actividad es adecuada pero el fósforo hidrolizado es poco aprovechado por el animal ya que la tasa de absorción de este mineral es mínima en esta sección del aparato digestivo.

2.4. Definición de Digestibilidad

El proceso de digestión se define como la reducción del tamaño de una molécula orgánica por hidrólisis, esta precede a la absorción que es la entrada de nutrimentos, moléculas y iones a las células de la mucosa intestinal. La digestibilidad dada la definición anterior, es la cantidad de alimento que no es excretada y se supone que ha sido absorbida (Low, 1980, Reis de Souza y Mariscal, 1997).

La digestibilidad se puede determinar de las siguientes maneras:

1. **Digestibilidad Aparente**, es aquella obtenida a partir de la digesta ileal y/o fecal. Este término solo nos permite conocer la cantidad de alimento que fue aprovechado por el animal, sin tomar en cuenta la proporción de la proteína endógena. (Caine et al., 1997).
2. **Digestibilidad Verdadera**, es aquella que contempla la excreción endógena, dándonos así un dato más preciso de la digestión del alimento. (Low, 1980)

De acuerdo al lugar de la toma de muestras, la digestibilidad también puede ser clasificada como ileal o fecal. La

digestibilidad ileal es aquella en donde la colecta de la muestra se lleva a cabo antes de la válvula ileocecal. Esta técnica es más exacta para determinar el aporte de nutrimentos, además nos permite medir la digestibilidad de origen enzimático que se lleva a cabo en el intestino delgado (Williams, 1995)

En la digestibilidad fecal o total, la muestra se colecta de las heces. Esta técnica es relativamente sencilla y nos permite conocer la diferencia entre la cantidad de nutrimento consumido y excretado en heces. La desventaja de este método es que la cantidad digestible se ve afectada por bacterias presentes en intestino grueso (Ciria, 1995).

3. OBEJTIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la adición de fitasas en dietas basadas en sorgo y pasta de canola, sobre la digestibilidad de los nutrimentos y en el desempeño productivo de cerdos de crecimiento.

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar el efecto de la adición de fitasa sobre la digestibilidad fecal aparente de fósforo, calcio y energía en dietas basadas en sorgo y canola, así como en dietas completas.
2. Constatar los beneficios de la enzima en la mejora de la digestibilidad de la energía en dietas completas, con el comportamiento productivo de cerdos alimentados con dietas adicionados con fitasa en un ámbito comercial.

4. HIPOTESIS

La adición de fitasa a dietas completas conteniendo sorgo y o la combinación sorgo-canola mejorará la digestibilidad del fósforo y calcio aumentando la disponibilidad de energía y disminuyendo la carga contaminante al ambiente sin afectar el comportamiento productivo de cerdos durante la etapa crecimiento.

5. MATERIAL Y METODOS

Este trabajo se realizó en dos diferentes localidades. La primera, en la granja experimental de ciclo completo del Centro Nacional de Investigación en Fisiología Animal (CENI-Fisiología-INIFAP) ubicado en Ajuchitlán, Querétaro, localizado a 2,100 msnm, con clima BSk' (w); semiseco templado con lluvias en verano, con una precipitación media anual de 460 a 630 mm y una temperatura media anual de 14°C. La segunda, en una granja comercial de ciclo completo ubicada en el Estado de Querétaro, en el poblado El Colorado, perteneciente al municipio de El Marques, Querétaro, localizado a 1910 msnm, con clima BSk' (w); semiseco templado con lluvias en verano, con una precipitación pluvial promedio de 500 mm y una temperatura media anual de 17°C. (INEGI, 2001).

El trabajo se dividió en tres experimentos, siendo los experimentos 1 y 2 pruebas de digestibilidad fecal aparente y el ensayo 3 una prueba de comportamiento productivo.

Antes de iniciar cada uno de los experimentos, los animales tuvieron un período de adaptación de dos semanas a los corrales en donde fueron alojados. En los experimentos 1 y 2, se usaron corrales individuales de 1.25 m², con un comedero frontal, un bebedero tipo chupón y piso de rejilla. En el experimento 3, los cerdos fueron alojados en corrales colectivos de 17 m², con comedero tipo tolva y bebederos tipo chupón.

5.1. DIETAS Y MANEJO GENERAL

En el experimento 1 se utilizó una dieta formulada con sorgo y otra en base sorgo-canola (Cuadro 2). A cada una de estas dietas se les agregó o no fitasa. Las fitasas que se añadieron fueron de

Aspergillus nigger, 500 U/kg y de *Pheniophora lycci*, 750 U/kg. La adición de dichas enzimas se hizo para contar con un mismo potencial de hidrólisis de fiátatos a un pH inferior a 5; y poder contar con una actividad específica mínima de 1,000 U/kg.

El experimento 2 contó con dos dietas y con un total de 5 tratamientos. La primera dieta (Control Positivo) se formuló con las siguientes características: 3.300 Mcal de energía metabolizable, 0.25% fósforo disponible y 0.60% de calcio total. La segunda dieta (Control Negativo) se formuló para resultar en 3.160 Mcal de energía metabolizable, 0.15% fósforo disponible y 0.50% de calcio total. Los restantes 3 tratamientos tuvieron la mismas restricciones de formulación que para el Control Negativo, pero con la adición de 250, 500 o 750 U/kg de Fitasa (Cuadro 3).

A las dietas de los experimentos 1 y 2 se les adicionó 0.3% de oxido de cromo (como marcador indigestible).

En el experimento 3, se usaron dos fases de alimentación, la primera comprendió de los 30 a los 60 kg, mientras que la segunda fue de los 60 a los 85 kg, momento en que por rutina y necesidades de la granja se dio por terminado el experimento, ya que en ese momento los animales más pesados de cada unidad experimental empezaron a ser sacados para venta. Cada fase contó con tres dietas experimentales, la formulación para cada una de ellas fue la siguiente: primer dieta (Control), que es la que por rutina se ofrece a los animales en la granja; segunda dieta (Control + FIT), que se formuló para tener menos 0.1 unidad porcentual de fósforo total, y adicionándole 750 U/kg de fitasa. La tercera dieta (FIT-EM), se formuló para contener 80 kcal/kg de EM menos respecto a la dieta 2, y los mismos niveles de fósforo total y de fitasa que la segunda dieta (Cuadro 4).

La fitasa que se añadió a las dietas de los experimentos 2 y 3 fue la proveniente del hongo *Pheniophora lycii*, la cual fue adicionada en la premezcla vitamínica y mineral a cada una de las dietas.

La materia prima y los alimentos terminados de cada uno de los experimentos se sometieron a un Análisis Químico Proximal con la finalidad de corroborar la formulación de las dietas.

La adición de la fitasa en cada una de las dietas experimentales se llevo a cabo en al momento de la fabricación del alimento. Las dietas formuladas en cada uno de los experimentos no fueron reformuladas, ya que la premezcla mineral y vitamínica contenía o no las fitasas.

En el experimento 1, el alimento se ofreció en forma pareada, es decir, la misma cantidad de alimento consumido en los grupos alimentados con dietas sin fitasa (basadas en sorgo y sorgo-canola), fue proporcionada a los cerdos que consumieron las dietas con fitasa. Esta práctica se siguió ya que niveles muy bajos de fósforo disponible (como en el grupo sin fitasa) pueden provocar menores consumos de alimento (Jongbloed and Kemme, 1990).

En los ensayos 1 y 2 el alimento se ofreció dos veces al día (0800 y 1700 horas). En ambos casos el consumo de alimento se pesó y registró diariamente.

Para el experimento 3, el alimento se ofreció a libertad y se llevó un registro semanal del consumo de alimento por corral.

Durante el transcurso de los experimentos 1 y 2, los animales se pesaron de manera individual desde el inicio y posteriormente cada 7 días, hasta el final de cada uno de los experimentos (21 y 42 días respectivamente). En el caso del experimento 3, los cerdos

fueron pesados al inicio de la prueba, al día 7 y posteriormente a intervalos de 14 días. En todos los ensayos los cerdos tenían libre acceso a agua.

5.2. MANEJO ESPECÍFICO

5.2.1. Experimento 1 y 2. Digestibilidad fecal aparente en dietas a base de sorgo y sorgo-canola y en dietas completas

En el experimento 1 se usaron 60 cerdos provenientes de un mismo grupo de parición. Del grupo inicial se seleccionó un total de 48 cerdos híbridos (24 hembras y 24 machos castrados), productos de un cruzamiento alterno Duroc X Landrace, con un peso promedio de 36.2 ± 4.0 kg.

Los cerdos se asignaron al azar a uno de los tratamientos, considerando la camada de origen y el sexo de los animales. Al cuarto día, después de un periodo de adaptación a las instalaciones y ser alimentados con dietas que contenían oxido de cromo como marcador, se realizó la toma de muestras de heces directamente del recto de cada uno de los animales, con intervalos de 12 horas por un periodo de 48 horas.

En el experimento 2 se usaron un total de 50 cerdos de un mismo grupo de parición. Después del periodo de adaptación se seleccionaron un total de 40 cerdos híbridos (20 hembras y 20 machos castrados) productos de un cruzamiento alterno Duroc X Landrace, con un peso promedio de 39.7 ± 2.4 kg.

La distribución de los animales a los tratamientos fue de manera aleatoria y se consideró la camada de origen y sexo de los cerdos.

En las semanas 2 y 5 del ensayo y una vez adaptados los animales a las instalaciones y a las dietas experimentales con marcador, se llevó a cabo la colecta de las heces, la cual se dio inicio cuando el marcador apareció en las excretas. El periodo de colecta fue a intervalos de 24 horas y por un periodo de 5 días, obteniendo así un total de 10 muestras por animal.

En ambos experimentos las heces fueron congeladas inmediatamente después de ser colectadas y durante los días de muestreo, en cada una de las semanas de colecta, las prácticas de manejo y alimentación fueron las mismas.

Las muestras de heces de cada periodo de colecta se liofilizaron, homogenizaron y molieron en una criba de 1 mm. Las heces fueron mezcladas para posteriormente tomar una muestra representativa y someterlas a las determinaciones de laboratorio para Materia Seca, Energía, Nitrógeno, Cenizas, Fósforo (A.O.A.C., 1990) y Cromo (Fenton y Fenton, 1979). En el ensayo 1 se determinó Calcio por Absorción Atómica. Con los resultados que se obtuvieron fueron determinados los coeficientes de digestibilidad fecal aparente aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{CDa} = (1 - (\text{Cromo en dieta} \times \text{Nutrimento en heces} / \text{Cromo en heces} \times \text{Nutrimento en dieta})) * 100$$

(Reís de Souza *et al*, 1997).

En el experimento 2 se hicieron mediciones de grasa dorsal y profundidad de músculo largo dorsal con ayuda de un equipo de ultrasonido de tiempo real Aloka 500 usando un transductor lineal de 3.5 MHz. Las mediciones se hicieron en el Punto 2, a 6.5 cm de la línea media, a la altura de la décima y última costilla (Cisneros *et al.*, 1996), para posteriormente estimar la profundidad de músculo y grasa dorsal, así como la ganancia de

tejido magro libre de grasa y el tejido magro libre de grasa *per se* mediante el uso de las ecuaciones de Brannaman *et al*, 1984.

En ambos ensayos se evaluó el comportamiento productivo de los animales a través del consumo diario de alimento, la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia de los cerdos.

5.2.2. Experimento 3. Prueba de comportamiento en granja comercial

En el presente estudio se usaron un total de 265 cerdos provenientes de cuatro lotes de producción alojados en corrales colectivos. En cada corral se alojaron de 10 a 14 cerdos, respetando los procedimientos de alojamiento de la granja. Por razones de homogeneidad de los pesos dentro de la unidad experimental (corral) se conformaron por grupo de producción corrales de machos castrados, de hembras y mixtos (hembras y machos castrados), incluyendo a los animales con menor tamaño al momento de la agrupación. Los animales fueron cerdos híbridos York X Landrace X Segher con un peso promedio de 31.8 ± 1.9 kg.

La unidad experimental (cerdos de un corral) fue pesada al inicio de la prueba y en los días 7, 21 y 35 del ensayo. De cada corral se tomó una muestra al azar de 4 cerdos para medir el músculo gran dorsal y profundidad de grasa en Punto 2, a 6.5 cm de la línea media, a la altura de la décima y última costilla (Cisneros *et al.*, 1996) con un equipo de ultrasonido de tiempo real Aloka 500 usando un transductor lineal de 3.5 MHZ, donde se estimó la profundidad de músculo y grasa, los cortes primarios, tejido magro libre de grasa y la ganancia diaria de tejido magro libre de grasa se determinaron de acuerdo a la Norma Mexicana (1993).

La colecta de heces y de agua de la charca se realizó los días 7, 21 y 35 del experimento. Las muestras fueron colectadas directamente de la charca que compartían dos corrales, en donde se tomo una muestra de 1 litro y heces. Se colectó una muestra por cada dos corrales, ya que estos compartían charca, por lo que se tuvo la precaución de que los animales de ambos corrales fueran del mismo tratamiento. Las muestras colectadas se congelaron y liofilizaron. Se determinó Cenizas, Nitrógeno (A.O.A.C., 1990), Fósforo y Calcio por medio de un equipo de Análisis por Inyección de Flujo, marca Tecator modelo 5027. Para la determinación de estos minerales se llevó a cabo previamente una digestión por microondas con ayuda del equipo MARSX CEM.

El comportamiento productivo de los cerdos se evaluó mediante la estimación del consumo diario de alimento, la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia.

6. ANALISIS ESTADISTICOS

Los experimentos fueron analizados por análisis de varianza, utilizando los procedimientos de los Modelos Lineales Generales (GLM) del paquete estadístico SAS (1982).

En el experimento 1, contó con un total de 48 cerdos híbridos asignados a uno de los 6 tratamientos. Cada tratamiento tuvo un total de 8 repeticiones. Los resultados fueron analizados bajo un modelo Completamente al Azar (Steel y Torrie, 1985) y para comparar la efectividad de las fuentes de fitasa, se usaron las siguientes comparaciones planeadas: Control vs adición de Fitasa; la diferencia entre las fuentes de Fitasa; la diferencia entre dietas (sorgo y sorgo-canola) y la posible interacción dieta × Fitasa. Estas comparaciones se calcularon con la opción CONTRAST de GLM (SAS, 1982), usando los coeficientes apropiados en comparaciones de grado de libertad único.

En el experimento 2, se usaron un total de 50 cerdos asignados a uno de los 5 tratamientos. Cada tratamiento contó con un total de 8 repeticiones. Los datos obtenidos en el ensayo fueron analizados bajo un modelo de Bloques Completos al Azar (Steel y Torrie, 1985). Se usaron dos bloques, cada uno con 4 repeticiones; los bloques fueron la oportunidad de uso de animales provenientes de dos grupos de producción (edades). Las comparaciones planeadas fueron los efectos mayores de sexo, Tratamiento y su interacción. Cuando el efecto de Tratamiento fue significativo ($P < 0.05$), se hicieron las siguientes comparaciones: Control positivo vs Control negativo; Control negativo vs los diferentes niveles de Fitasa y los efectos lineales y cuadráticos por los niveles de inclusión de la Fitasa en la dieta. Estas comparaciones se hicieron con la opción CONTRAST de GLM (SAS, 1982), usando los coeficientes

apropiados en comparaciones de grado de libertad único o los coeficientes ortogonales correspondientes.

El diseño del Experimento 3 fue de Bloques Completos al Azar (Steel y Torrie, 1985). Cada uno de los 3 Tratamientos tuvo un total de 8 repeticiones (corrales con 10 a 14 cerdos), de las cuales 3 fueron de hembras, 3 de machos castrados y 2 mixtos (hembras y machos castrados), para un total de 265 animales. El sexo (hembras, machos y corrales mixtos) fueron los bloques (3). El número de animales por corral fue uniforme por bloque, pero solo se tuvieron suficientes animales para formar 2 corrales de animales mixtos por Tratamiento, por lo que se usó la suma de cuadrados tipo III en el procedimiento GLM (SAS, 1982). Las comparaciones planeadas fueron los efectos de Tratamiento, comparando el control contra cualquiera de los otros dos Tratamientos.

7. RESULTADOS

7.1 Experimento 1.

Los coeficientes de digestibilidad de Materia Seca, Cenizas, Calcio y Energía se encontraron dentro de los rangos normales de estos ingredientes, tanto en el caso de las dietas de sorgo como en las de sorgo-canola, sin embargo, en el caso de Proteína Cruda y Fósforo, estos fueron menores de lo esperado (Cuadro 5 y 6).

En el cuadro 5, se puede observar que independientemente de la fuente de la Fitasa, los coeficientes de digestibilidad fecal aparente de Calcio, Fósforo y Energía, fueron mayores que los de las dietas que no incluyeron fitasa ($P < 0.05$).

La adición de la Fitasa a dietas basadas en sorgo y pasta de canola incrementó los coeficientes de digestibilidad fecal aparente de Calcio y Fósforo, sin importar el origen de la enzima (Cuadro 6). En el caso de la Energía solo se pudo observar un incremento numérico con la inclusión de la enzima a las dietas, sin embargo este no fue estadísticamente diferente ($P > 0.20$).

Las kilocalorías liberadas por la acción hidrolítica de la enzima fueron en promedio de 100 kcal de EM/kg, en ambas dietas, a pesar de que en las dietas basadas en sorgo y pasta de canola solo se pudo observar un efecto positivo de la enzima de manera numérica. Este número se obtuvo al realizar el cálculo de la Energía Metabolizable a partir de la Energía Bruta de cada uno de los tratamientos, aplicando previamente los coeficientes de digestibilidad obtenidos en el experimento para determinar la Energía Digestible, de la cual finalmente se obtendrá la Energía

Metabolizable (considerando que esta última representa un 96% de la Energía Digestible, (NRC, 1998).

Al adicionar la enzima también se pudo observar una disminución en la excreción fecal de fósforo, siendo hasta un 31% menor para los alimentos basados en sorgo y de un 24% en dietas basadas en sorgo-canola (Cuadro 7 y 8).

En cuanto al desempeño productivo de los animales dentro del experimento no se observó ningún efecto por la adición de la enzima a las dietas ($P > 0.05$). El consumo diario de alimento promedio para ambas dietas fue de 1.937 kg/día. La ganancia diaria de peso fue de 0.563 g/día mientras que la eficiencia alimenticia de los animales fue de 0.282. Es necesario hacer notar que el comportamiento productivo de los cerdos en todos los tratamientos fue pobre, como consecuencia de la necesidad metodológica del experimento, ya que las dietas se formularon deficientes en nutrientes.

7.2 Experimento 2.

Al realizar el análisis de dosis crecientes de fitasa se observó un incremento lineal positivo de los coeficientes de digestibilidad de Materia Seca, Energía, Proteína Cruda, Cenizas y Fósforo conforme se aumentaba la dosis de la enzima ($P < 0.01$). La acción hidrolítica de la enzima mejoró la digestibilidad del Fósforo hasta en un 44%, mientras que el de la Energía se incrementó hasta en un 5.4%, liberando hasta 140 kcal EM/kg, siguiendo el mismo procedimiento para el cálculo de kilocalorías liberadas, lo cual ratifica lo observado en el experimento anterior (Cuadro 9)

Con los coeficientes de digestibilidad se calcularon los aportes de nutrientes digestibles (ponderados a la variación), como se muestran en el Cuadro 10, y es claro que con el nivel mayor de fitasa (750 U/kg) se alcanzaron valores similares o superiores a los que se obtuvieron con la dieta Control Positivo (sin fitasa), lo que corrigió las diferencias provocadas por el diseño de las dietas (Fósforo y Energía) y confirma el efecto de la enzima sobre la disponibilidad de los nutrientes para los animales.

En cuanto al desempeño productivo no se encontró diferencia entre tratamientos ($P>0.25$), pero debe notarse que el consumo diario de alimento fue mayor en los machos ($P<0.008$) y fue diferente ($P<0.05$) entre las dietas Control (alta y baja en energía, sin fitasa) siendo mayor en la dieta con menor densidad energética; no se encontró respuesta ($P>0.26$) a la adición de Fitasa, aún cuando en presencia de ésta y a mayor nivel de la enzima, las diferencias numéricas sugieran un menor consumo (Cuadro 11).

En el nivel más alto de inclusión de fitasa (750 U/kg), se observó una interacción Tratamiento×Sexo en la eficiencia alimenticia, donde las hembras fueron más eficientes que los machos castrados (0.36 vs 0.30). Esto confirma la mayor dependencia de las hembras por energía para el sustento del crecimiento. Los machos, con mayor capacidad de consumo, pudieron sobreponerse a la menor densidad energética de las dietas con Fitasa, lo que contribuyó a confundir la respuesta (productiva) a la mayor densidad energética de la dieta, por la formulación, o por el efecto de la Fitasa (Cuadro 11).

En lo que se refiere a la composición corporal de los cerdos al final del experimento, esta no se vio afectada por efecto de la adición de la enzima a las dietas ($P>0.15$). Los cerdos iniciaron con un promedio de tejido magro de 15.9 ± 1.0 kg para todos los

tratamientos, sin haber diferencia estadística ($P>0.15$). En cuanto a la grasa dorsal y magro final, así como en la ganancia diaria de tejido magro libre de grasa no hubo efecto por la adición de Fitasa a los alimentos ($P>0.15$) como se muestra en el Cuadro 12.

7.3 Experimento 3

No se encontraron diferencias en el comportamiento productivo entre los tratamientos ($P>0.10$), lo que indica que el uso de la Fitasa permite reducir el contenido de EM, Ca y P de los alimentos sin repercutir en la productividad de los animales, siempre que el ajuste sea proporcional a la actividad hidrolítica de la enzima (Cuadro 13).

Las apreciaciones anteriores parecen corroborarse por las respuestas en la composición corporal de los cerdos, en donde no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos por la adición de la Fitasa a la dieta ($P>0.10$), como se muestra en el Cuadro 14.

El cuadro 15 muestra que la inclusión de Fitasa en dietas utilizadas para alimentar a cerdos durante la etapa de producción de crecimiento y finalización, permite disminuir la carga mineral que se encuentra contenida en los desechos orgánicos (heces, orina y alimento), producidos durante todo este período ($P<0.01$). Al mejorar la disponibilidad de los nutrientes en los cerdos, se disminuyó la excreción y/o desperdicio de los mismos, lo cual repercutió en el costo de la dieta y en dar un beneficio extra al reducir el potencial contaminante por exceso de Nitrógeno, Fósforo y Calcio (Cuadro 15).

8. DISCUSIÓN

La adición de enzimas como la fitasa en dietas para cerdos y aves ha demostrado un incremento en la digestibilidad de nutrientes y por ende en el aprovechamiento de los mismos así como una menor excreción de minerales como fósforo y nitrógeno al ambiente. (Aldeola et al., 1995; Murry 1995; Yi et al., 1996; Li et al., 1998). Sin embargo, la efectividad de las enzimas depende en gran medida de la presencia y cantidad del sustrato. La combinación de grano de sorgo y pasta de canola, parece particularmente susceptible a la acción de estas enzimas, ya que esta mezcla ofrece una gran cantidad de sustrato para la fitasa además es poca la información que se tiene con estos ingredientes.

La pasta de canola se caracteriza por ser un ingrediente rico en fósforo (cerca del 1%), pero esté se encuentra unido al ácido fítico formando complejos muy estables, haciendo a este mineral poco disponible para animales no rumiantes que carecen de actividad fítica (Bell, 1993; Pallauf and Rimbach, 1997; Hickling, 2001). Sin embargo al complementar el sorgo con la pasta de canola tiene un problema adicional a la presencia de fitatos y este es que ambos ingredientes son relativamente (con relación al maíz y la pasta de soya) altos en fibra y bajos en energía.

En el experimento 1 de este trabajo, se observó que en las dietas basadas en sorgo y adicionadas con *Aspergillus niger*, las digestibilidades de calcio, fósforo y energía se incrementaron un 40, 177 y 4% respectivamente, mientras que el incremento para *Peniophora lycii* fue mayor, siendo de 49, 188 y 5% respectivamente. En las dietas basadas en sorgo-canola adicionadas con *Aspergillus niger* y *Peniophora lycii*, se observó un efecto positivo en calcio incrementándose en un 19 y 18% la digestibilidad de este mineral respectivamente, mientras que para

fósforo el incremento fue de un 111% para ambas fitasas. En el caso concreto de la energía, la digestibilidad de este nutriente no se vio afectada significativamente, más sin embargo se noto un incremento numérico.

Los resultados de este trabajo mostraron digestibilidades de proteína cruda y fósforo menores a lo esperado, quizá debido a la excreción endógena, ya que con niveles bajos en el consumo de estos nutrimentos la secreción endógena origina errores en la estimación al aproximarse a los niveles de excreción de la porción indigestible del alimento (Jongbloed and Kemme, 1990; Mroz et al., 1994; Nyachoti et al., 1997). Metodológicamente, la corrección de la digestibilidad a nivel ileal, por la porción endógena, proveniente principalmente de enzimas, albúminas séricas, mucoproteínas, células descamadas, péptidos y aminoácidos secretados en el lumen intestinal, exige que los niveles del nutriente (particularmente N y P) se lleven a concentraciones similares a las que se usarían en dietas convencionales (Cervantes et al., 2000). En donde la excreción del endógeno tiende a ser menor que en dietas proteicamente bajas o libres de proteína (Mariscal et al, 1995).

En el experimento 1, al llevar la dieta experimental sorgo-canola a un nivel de proteína superior al 12% se evito el sesgo por la excreción endógena. Contrario a lo observado en la dieta solo sorgo en donde la digestibilidad de proteína y fósforo fueron anormalmente bajos (27.15% y -19.52%, respectivamente). Al combinar el sorgo con la pasta de canola, los coeficientes de digestibilidad que se observaron muy bajos en la dieta solo sorgo, se corrigieron llegando al rango de la esperanza de respuesta, pudiéndose observar la diferencia más importante en los niveles basales de los nutrientes problema: proteína: 58.82% y fósforo - 3.16%.

Independientemente de los coeficientes de digestibilidad observados las tendencias de comportamiento de la fitasa fueron iguales con las dietas basadas en sorgo y sorgo-canola, es decir, que independientemente de la fuente de enzima existe un efecto positivo en la disponibilidad de nutrientes. Este efecto fue mayor para el caso de fósforo y calcio en donde se incrementaron hasta 44 y 23 unidades porcentuales, respectivamente. En el caso de proteína y energía el efecto no fue significativo sin embargo se observó un incremento numérico de hasta 5 y 4 unidades porcentuales, respectivamente.

El efecto en el incremento de la digestibilidad de fósforo, calcio y otros nutrientes se ha documentado ampliamente durante toda la cadena productiva de los cerdos (Han et al., 1997). Murry (1995) al trabajar una prueba de digestibilidad aparente con cerdos en crecimiento de 36 kg alimentados con dietas basadas en maíz y pasta de soya, utilizando dos niveles de fósforo (0.40 y 0.60%) y dos de fitasa comercial derivada de *Aspergillus spp.* (0 y 1100 U/kg) observó que la digestibilidad del calcio se incrementó en un 14.39% en los cerdos que consumieron las dietas con el nivel más bajo de fósforo y adicionadas con la enzima. La magnitud de este efecto fue mayor al ser evaluada la digestibilidad del fósforo donde el incremento fue en un 35%.

Li et al. (1998) utilizando cerdos en crecimiento con un peso promedio de 23 kg alimentados con una dieta basal deficiente en fósforo y adicionada con 750 U/kg de fitasa (*Aspergillus oryzae*) reportaron la liberación de fósforo fitico permitiendo que los animales tengan un comportamiento productivo similar a aquellos que son alimentados con dietas suplementadas con fósforo inorgánico.

En un segundo experimento 2 de este trabajo se evaluaron dosis crecientes de fitasa provenientes de *Peniophora lycii* (0, 250, 500 y 750 U/kg) en dietas completas basadas en sorgo y pasta de canola observándose que los mejores resultados se obtuvieron con la dosis más alta y este incremento fue lineal en las digestibilidades de proteína cruda (65.58 a 71.92%; $P < 0.001$), de fósforo (33.88 a 48.71%; $P < 0.001$) y de energía (76.42 a 80.54%; $P < 0.001$) conforme la dosis de fitasa se incrementaba. Así la liberación del fósforo logró aumentar la digestibilidad de este mineral en un 44%, mientras que dicho efecto fue menor en el caso de la energía donde solo se logró incrementar en un 5%.

Los resultados antes mencionados concuerdan con trabajos realizados por otros autores en donde se han probado diferentes dosis de fitasa, un ejemplo es Cromwell et al. (1993) quienes al trabajar con animales en crecimiento alimentados con dietas basales suplementadas con niveles crecientes de fitasa de *Aspergillus niger* de (0, 250, 500 y 1000 U/kg) cuya única fuente de fósforo fue la pasta de soya o la combinación de la pasta de soya con maíz, reportaron que al incrementarse la dosis de fitasa la disponibilidad de fósforo aumentó de manera lineal, encontrando su mayor punto en el nivel más alto donde esta variable se incrementó hasta un 54% en la dieta de pasta de soya y hasta un 43% en la dieta basada en pasta de soya y maíz.

En el experimento 2, se encontró que la dosis de 750 U/kg es la adecuada para permitir la liberación de por lo menos 1 gramo de fósforo inorgánico. Esto coincide con lo mencionado por Yi et al (1996), donde concluye que para poder reemplazar 1 gramo de fósforo inorgánico se requiere de aproximadamente de 777 U de fitasa cuando los niveles de fósforo disponible son de 0.05% y de 623 U cuando el nivel de fósforo disponible se incrementa a 0.16% y de 676 cuando ambos niveles se combinan.

La liberación de aminoácidos, fósforo y otros minerales de la molécula del fitato por acción de la fitasa ha sido ampliamente comprobado (Matti, 1990; Matsui et al., 2000), sin embargo es poca la información que se tiene en cuanto a la liberación de energía por efecto de la enzima.

En el experimento 1 de este trabajo, el incremento en la digestibilidad de la energía repercutió en la liberación de 100 kcal de EM/kg solo en las dietas basadas en sorgo. En el segundo experimento al usar dietas completas usando la combinación de sorgo y pasta de canola adicionadas con niveles crecientes de fitasa (0, 250, 500 y 750 U/kg) y formuladas para cubrir la mayor parte de los requerimientos nutricionales de cerdos en crecimiento a excepción de fósforo y energía se observó la liberación de hasta 140 kcal de EM/kg en las dietas con el nivel más alto de enzima.

Otros autores como Johnston et al. (2000) han encontrado una menor liberación de energía en dietas para aves por efecto de las fitasas (de 46 a 89 kcal) a lo encontrado en este trabajo. Las kilocalorías liberadas en este ensayo fue de hasta 140 kcal. La diferencia en la liberación de la energía se puede explicar por la cantidad de sustrato (ácido fitico) presente en las dietas y por una posible digestibilidad asociativa.

En la mayoría de los experimentos antes citados los cerdos son alimentados con dietas basadas en maíz y pasta de soya. Esta combinación ofrece una menor concentración de fósforo fitico que la combinación de sorgo y pasta de canola.

Si consideramos que la proporción calculada de fósforo fitico en una molécula de fitato, en las dietas experimentales de este trabajo, es de 30% y si suponemos que el fósforo total en las dietas (sin tomar en cuenta el fósforo inorgánico) corresponde a

la misma proporción de ácido fítico se puede considerar que la energía liberada por la acción de la fitasa es de 50 kcal. La diferencia de 90 kcal, para lograr el tope de liberación, obtenido en este trabajo podría explicarse por la liberación de otros componentes nutricionales, como es el caso de la proteína, en donde la digestibilidad se ve incrementada, es decir, la acción hidrolítica de la fitasa, ya sea de manera total o parcialmente en la molécula de ácido fítico permite la acción de otras enzimas para el desdoblamiento de componente fibrosos o bien se mejora la hidrólisis de otros componentes que aportan energía (Shelton et al., 2003).

El incremento de la digestibilidad de varios nutrientes al incluir fitasa en la ración, tiene como consecuencia una reducción en la cantidad de estos excretados al medioambiente. En este sentido, un problema directo en la industria porcina en México es la producción de desechos orgánicos (heces y orina) ya que no se tiene un dato exacto del contenido de nitrógeno y fósforo en los desechos orgánicos de cerdos, así como de la tasa de excreción de dichos desechos oscila alrededor de un 6 o 7% del peso vivo total de la granja (Pérez,2002). Un cálculo aproximado de las deyecciones debe de considerar diversos factores como son la edad del animal, sexo, madurez fisiológica, volumen de agua bebida, cantidad y calidad de alimento ingerido.

Una alternativa para disminuir el impacto ambiental de las deyecciones de los cerdos es usarlas como fertilizantes, sin embargo, debido a la gran cantidad de nitrógeno y fósforo excretado por la baja disponibilidad de estos nutrientes para los cerdos, se debe de restringir la aplicación de estos subproductos de la producción porcina en los suelos por períodos prolongados por el riesgo de sobrepasar la capacidad de eutricación en el ambiente (Kemme et al., 1997).

En este trabajo se pudo observar que en el Experimento 1, se disminuyó el contenido de fósforo fecal, independientemente de la fuente de fitasa adicionada (*A. niger* o *P.lycii*), en las dietas de sorgo (3.29 vs 2.27, 2.56 g/kg de materia seca ingerida, respectivamente $P < 0.003$) y en las dietas basadas en sorgo y pasta de canola (4.22 vs 3.22, 3.45 g/kg de materia seca ingerida, respectivamente $P < 0.01$). En el experimento 3, además de observarse una disminución en la excreción de fósforo en dietas completas adicionadas con fitasa provenientes de *Peniophora lycii* (0.40 vs 0.29, 0.26 g/l) también se disminuyó la eliminación fecal de calcio (0.48 vs 0.26, 0.22 g/l) y de nitrógeno (2.28 vs 1.98, 1.87%).

En la literatura Yi et al. (1996) mencionan que al alimentar cerdos en crecimiento con dietas con 0.32% de fósforo disponible y adicionado con fitasa se disminuye de un 25 y hasta un 50% la excreción fecal de fósforo. Lo anterior concuerda con lo determinado por Harper et al. (1997), donde se estimó que la reducción en la eliminación de fósforo fue de aproximadamente 21.5%. Li et al., 1998, por otro lado mencionan que la excreción fecal de fósforo se disminuye en cerdos alimentados con dietas deficientes en fósforo y adicionadas con fitasa (750 U/kg) combinada o no con vitamina D₃. Este efecto fue menor en el caso del nitrógeno donde solo se alcanzó a disminuir en un 8%.

En cuanto al desempeño productivo, en el Experimento 1, fue pobre esto como consecuencia de la formulación de las dietas ya que eran deficientes en nutrientes, lo cual se debió por la necesidad metodológica del ensayo. En el experimento 2, se observó solo un mayor consumo en las dietas con menor densidad energética (2.34 vs 2.17 kg/d). Finalmente el Exp. 3, se planteó para medir el comportamiento productivo de los animales durante la fase de crecimiento a finalización alimentados con dietas formuladas para cubrir los requerimientos nutricionales de los cerdos, a excepción

de fósforo y energía, los cuales fueron deficientes, pero adicionada con 750 U/kg de fitasa (*Peniophora lycii*). En dicho experimento no hubo diferencia en el consumo de alimento (2.096 vs 2.071, 2.120; $P>0.81$), ni en la ganancia diaria de peso (0.791 vs 0.805, 0.788; $P>0.86$), ni en la eficiencia alimenticia (0.378 vs 0.391, 0.373; $P>0.29$). Sin embargo, la adición de la enzima tuvo un efecto en el consumo de Energía Metabolizable, en donde el grupo de animales que consumieron la dieta energéticamente alta de energía obtuvo el mayor consumo de energía, a pesar de que numéricamente fue el grupo con menor consumo de alimento. Sin embargo el evaluar la eficiencia energética se pierde cualquier efecto de la enzima, obteniendo el mismo valor en los tres tratamientos (0.121 kg/Mcal; $P>0.98$). En cuanto a la composición corporal no hubo ningún efecto de la fitasa.

La Fitasa efectivamente liberó energía, cuando no se ajustó el aporte de EM de la dieta, los consumos de alimento fueron similares, pero el aporte de la enzima resultó en una mejor disponibilidad de la energía, lo que pudo mejorar numéricamente la ganancia diaria de peso, porque fue una función del consumo de energía (GDP/EM). Estos resultados sugieren que la respuesta de los animales estuvo limitada por la disponibilidad de este nutrimento, por lo cual los beneficios de la fitasa son más notables en la productividad del cerdo, favoreciendo la liberación del nutriente.

Se ha evaluado con anterioridad el comportamiento productivo de lechones y cerdos en crecimientos alimentados con dietas suplementadas con fitasa y se ha observado en el caso de lechones que hay un incremento lineal al adicionarse la enzima en dietas bajas en fósforo (Yi et al., 1996). En estudios realizados con cerdos de crecimiento a finalización se observó que no hubo ningún efecto significativo en el comportamiento productivo de los cerdos

entre aquellos que comieron una dieta balanceada y aquellos que consumieron alimento con niveles bajos en fósforo y adicionada con fitasa (Harper et al., 1997; Johnston et al., 2000), lo cual concuerda con lo obtenido en este trabajo.

Lo anterior nos da alternativas para reducir las concentraciones de nutrimentos como fósforo, calcio y energía durante la formulación de las dietas, sin llegar a tener un efecto negativo en la productividad de los cerdos en la línea de producción. Así mismo nos permite disminuir la descarga mineral, disminuyendo por ende la contaminación ambiental. Sin embargo no se debe de olvidar que la efectividad de la enzima se debe de medir con base a su función principal la cual es la liberación de fósforo a partir del ácido fitico y posteriormente en la liberación de otros nutrientes como es la energía.

9. CONCLUSIONES

1. La fitasa mejoró la disponibilidad del fósforo, calcio energía, incrementando su digestibilidad 44, 23 y 4 unidades porcentuales.
2. La hidrólisis del ácido fítico permite la liberación de hasta 140 kcal de EM en dietas basadas en sorgo y pasta de canola.
3. La hidrólisis total o parcial de la fitasa sobre los fitatos, contribuye a mejorar o incrementar la hidrólisis de otros componentes que aportan energía, como es el caso de la fibra.
4. El aumento en la disponibilidad de nutrientes permite disminuir la concentración de nutrientes como es el caso de fósforo, calcio y energía en los alimentos adicionados con fitasa.
5. La adición de la fitasa a dietas para cerdos permite reducir la carga de contaminantes al ambiente en una proporción similar a lo reportado por la literatura.

10. LITERATURA CITADA.

1. A.O.A.C.1990. Officials Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists, 15 th. Ed. Arlington, USA.
2. Adeola O., Lawrence V.B., Sutton L.A. and Cline R.T. 1995. Phytase induced changes in mineral utilization in Zinc supplemented diets for pigs. J. Anim. Sci. 73: 3384-3391.
3. Bell J.M. 1993. Factors affecting the nutritional value of canola meal: A review. Can. J. Anim. Sci. 73: 679-697
4. Bell JM, Keith MO. Factors affecting the digestibility by pigs of energy and protein in wheat, barley and sorghum diets supplemented with canola meal. Anim Feed Sci Technol 1989; 24:253-265.
5. Brannaman L.J., Christian L.L., Rothschild F.M and Kline A.E. 1984. Prediction equations for estimating lean quantity in 15 to 50 kg pigs. J. Anim. Sci. 59 (4): 991-996.
6. Bühler M., Limper J., Müller A., Schwarz G., Simon O., Sommer M y Spring W. 1998. Las enzimas en la Nutricion Animal. Ed Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung. Alemania.
7. Caine W.R., Saber W.C. Tamminga S., Verstegen M.W.A., Schulze H. 1997. Apparent ileal digestibilities of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease treated soybean meal. J. Anim. Sci 75: 2962-2969.
8. Campell R.D and Wilson W.J. 2003. Pelleting satability of RONOZYME® P (CT) Phytase en swine rations. Summary of assays conducted during 2000-2002. Roche Vitamins Inc. USA.
9. Cervantes R.M., Gonzales V.V., Rodríguez R.S., Cuca G.M y Cromwell G. 2001. Pérdida de aminoácidos endógenos en cerdos con niveles variables de consume de alimento.

10. Ciria J. 1995. Digestibilidad. En. Buxade C. Zootecnia. Bases de producción animal II. Reproducción y alimentación animal (Ed. Mundi Prensa) p. 169-179.
11. Cisneros F., Ellis M., McKeith K.F., McGaw J. and Fernando R.L. 1996. Influence of Slaughter weight on growth and carcass characteristics, commercial cutting and curing yields, and meat quality of barrows and gilts from two genotypes. J. Anim. Sci. 74: 925-933.
12. Copeland A.R. 1996. Enzymes: A practical introduction to structure, mechanism and data analysis. Ed Wiley-VCH. New York, USA.
13. Cousins B. 2001. Las enzimas en la nutrición animal. Segundo Seminario de Biotecnología para la Alimentación Animal. AMENA A.C., México D.F.
14. Cromwell L.G., Stahly S.T., Coffey D.R., Monegue J.H. and Randolph H.J. 1993. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorous in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. J. Anim. Sci. 71: 1831-1840.
15. Fenton T.W and Fenton W. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. Can. J. Anim. Sci. 59: 631-634.
16. Ganong W. F., 1993. Manual de fisiología médica. El manual moderno, 16a. edición. México. 409-411.
17. Han M.Y., Yang F., Zhou G.A., Millar R. E., Ku K.P., Hogberg G.M. and Lei G.X. 1997. Supplemental phytases of microbial and cereal sources improve dietary phytate phosphorus utilization by pigs from weaning through finishing. J. Anim. Sci. 75: 1017-1025.
18. Harper F.A., Kornegay T.E and Schell C.T. 1997. Phytase supplementation of low phosphorus growing finishing pigs diets improves performance, phosphorus digestibility and bones mineralization and reduces phosphorus excretion. 75: 3174-3186.

19. Hernández L.W. 1998. Nutrición y alimentación del lechón, Seminario Internacional de Porcicultura, Irapuato, Gto.
20. Hickling D. 2001. Pasta de canola. Guía para la industria del pienso. 3^a ed. Canola Council of Canada.
21. INEGI. 2001. Anuario Estadístico del Estado de Querétaro, México.
22. Johnston L.S. and Southern L.L. 2000. Effects of microbial phytase on amino acid and energy availability in pigs and chickens. Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. Campinas S.P
23. Jongbloed A.W. and Kemme P.A. 1990. Apparent digestible phosphorous in the feeding of pigs in relation to availability requirement and environment. Digestible phosphorous in feedstuffs from plant and animal origin. Netherlands J. Agri. Sci. 38: 567-575.
24. Jongbloed W.A and Everts H. 1992. Apparent digestible phosphorous in the feeding of pig in relation to availability, requirement and environment. 2. The requirement of digestible phosphorous for piglets, growing-finishing pigs and breeding sows. Netherlands J. Agri. Sci. 40: 123-136.
25. Kemme A.P., Jongbloed W.A., Mroz Z. and Beynen C.A. 1997. The efficacy or *Aspergillus niger* phytase in rendering phytate phosphorous available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. J. Anim. Sci. 75: 2129-2138.
26. Kemme A.P., Radcliffe S.J., Jongbloed W.A and Mroz Z. 1998. Factors affecting phosphorous and calcium digestibility in diets for growing-finishing pigs. J. Anim. Sci. 75: 2139-2146.
27. Kerovou J. 2000 Thesis. A novel Phytase from *Bacillus*. Characterization and production of the enzyme. Faculty of science of the University of Helsinki.

28. Kornegay T.E. 1999. El uso de la fitasa en la nutrición porcina. Simposio sobre la Aplicación de la Biotecnología en la Nutrición Animal. México, D.F.
29. Li D., Che X., Wang Y., Hong C. and Thacker A.P. 1998. Effect of microbial phytase, vitamin D₃ and citric acid on growth performance and phosphorous, nitrogen and calcium digestibility in growing swine. Anim. Feed Sci. and Technology. 73: 173-186.
30. Lott N.A.J., Ockenden I., Raboy V. and Batten . D.G. 2000. Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruit: a global estimate. Seed Science Research. 10: 11-33
31. Low A.G. 1980. Nutrient absorption in pigs. J. Sci. Food Agric. 31: 1087-1130.
32. Mariscal L.G., Sevé B., Colléaux Y. and Lebreton Y. 1995. Endogenous amino nitrogen collected from pigs with end to end ileorectal anastomosis is affected by the method of estimation and altered by dietary fiber. J. Nutr. 125:136-146.
33. Matsui T., Nakagawa Y., Tamura A., Watanabe C., Fujita K., Nakajima T. and Yano H. 2000. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal based diet for growing pigs. J. Anim. Sci. 78: 94-99.
34. Matti N. 1990. Microbial phytase supplementation for improving availability of plant phosphorus in the diet of the growing pigs. J. Agric. Sci in Finland. 62: 435-443.
35. Mojica E. MaC. 2001. Una nueva fitasa en la industria animal. Seminario Internacional Roche. Guadalajara, Jal.
36. Morgan A. y Bedford M. 1995. Enzimas para piensos compuestos con base en trigo, Reimpresión del Feed Compounder. :1-6.
37. Mroz Z., Jongbloed A and Kemme A.P. 1994. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. J. Anim. Sci. 72: 126-132.
38. Murry C.A. 1995. Effect of microbial phytase on calcium and phosphorous digestibility and serum mineral concentrations in

- growing and finishing pigs. Phytase and mineral digestibility. Annual report. Animal and Dairy Science Department. Pgs: 301-304.
39. Norma mexicana para la evaluación de la carne de cerdo en canal. 1993. NMX-FF-81-1993-SCFI. Diario Oficial de la Federación. Tomo CDLXXVII No. 7.
40. NRC. 1998. National Research Council. Nutrient Requirements of Swine. 10 th ed. Washington, DC, USA: National Academy Press.
41. Nyachoti D.M., De Lange C.F.M., McBride B.W. and Schulze H. 1997. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: A review. Can. J. Anim. Sci. 77:149-163.
42. Pallauf J. and Rimbach G. 1997. Nutritional Significance of Phytic Acid and Phytase. Arch. Anim. Nutr. 50: 301-319.
43. Pérez E.R.H. 2002. Aspectos económicos ambientales de la ganadería en México: La porcicultura en la región de La Piedad, Michoacán. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
44. Ravindran V., Cabahug S., Ravindran G and Bryden L.W. 1999b. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. Poultry Sci. 78: 699-706.
45. Rebollar GP. y Mateos G.G. 1999. El Fósforo en Nutrición Animal. Necesidades, Valoración de Materias Primas y Mejora de la Disponibilidad. XV Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Ed. P. García, C. de Blas y G.G. Mateos, Madrid, España.
46. Reis de Souza T.C., Mariscal LG. 1997. El destete, la función digestiva y la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. Tec. Pec. Mex. 35: 145.
47. SAS. 1982. SAS User's Guide: Statistics. SAS Inst., Inc., Cary, N.C
48. Shelton L.J., Southern L.L., Bidner D.T., Persica A.M., Braun J., Cousins B. and McKnight F. 2003. Effect of microbial phytase

ANEXO DE CUADROS

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Cuadro 2. Composición de las dietas Experimento 1

Ingrediente, kg	Sorgo	Sorgo+Canola
Sorgo, grano	97.91	77.91
Canola, pasta	----	20.00
Aceite de soya	1.00	1.00
Carbonato de Calcio	0.50	0.50
Sal	0.36	0.36
Colina, HCl	0.08	0.08
Premezcla*	0.15	0.15
TOTAL	100.00	100.00

Nutrimentos Analizados

Nutriente	Sorgo	Sorgo-canola
Materia Seca, %	89.54	90.24
Energía Bruta, kcal/kg	4,510.62	4,517.51
Energía Dig. Calculada, kcal/kg	3,450.12	3,408.78
Proteína cruda, %	9.29	16.30
Cenizas, %	3.49	3.76
Calcio total, %	0.76	1.09
Fósforo total, %	0.31	0.47

***VITAMINAS:** A 10000 UI; D 1500 UI; E 60 UI; K 4 mg; B₁ 2.5 g; B₂ 6 mg; B₆ 1.5 mg; B₁₂ 0.033 mg; Folato 4 mg; Biotina 0.25 mg; Pantotenato 23.6 mg; Nicotinamida 40 mg; **MINERALES:** Zinc 151 mg; Hierro 154 mg; Manganeso 39 mg; Cobre 25 mg; Iodo 2 mg; Selenio 0.3 mg. La premezcla Vitamínica y mineral con y sin fitasa.

Cuadro 3. Composición de las dietas del Experimento 2

Ingrediente kg/ton	Control Positivo	Control Negativo
Sorgo, grano	68.61	73.87
Soya, pasta	16.25	15.00
Canola, pasta	9.00	9.00
Sebo	3.60	0.08
Fosfato dicalcico	0.88	0.37
Piedra caliza	0.84	0.82
Sal	0.36	0.36
Premezcla*	0.25	0.25
L-Lisina, HCl	0.16	0.19
L-Treonina	0.05	0.06
Total	100.00	100.00

Nutrimientos Analizados

Nutriente	Control Positivo	Control Negativo
Materia Seca, %	91.18	90.49
Energía Bruta, kcal/kg	4,599.98	4,229.68
Energía Dig. Calculada, Kcal/kg	3,551.21	3.339.65
Proteína cruda, %	16.38	16.66
Cenizas, %	5.04	4.89
Calcio total, %	0.61	0.52
Fósforo total, %	0.52	0.42

***VITAMINAS:** A 20000 UI; B₁ 2.50mg; B₂ 10mg; B₆ 5mg; B₁₂ 0.05mg; E 75 UI; D₃ 3750 UI; K₃ 5mg; Nicotinamida 63mg; Ácido fólico 1.5mg; Biotina 0.2mg; Pantotenato 34mg; Colina 750mg; **MINERALES:** Iodo 1.75mg; Zinc 250mg; Selenio 0.75mg; Cobre 25mg; Manganeseo 100mg; Hierro 250mg. Premezcla vitamínica y mineral con y sin fitasa.

Cuadro 4. Composición de las dietas del Experimento 3

Ingredientes,kg	Fase 1 30 a 60 kg			Fase 2 60 a 85 kg		
	Control	Control	Fitasa - EM	Control	Control	Fitasa - EM
		+ Fitasa			+ Fitasa	
Sorgo, grano	69.40	70.88	73.27	73.49	75.39	77.68
Soya, pasta	18.70	18.60	18.30	9.70	9.50	9.20
Canola, pasta	4.40	4.20	3.90	9.10	8.80	8.60
Sebo	2.90	2.40	0.60	3.00	2.40	0.60
Melaza de caña	1.60	1.60	1.60	2.00	2.00	2.00
Fosfato	0.90	0.32	0.32	0.71	0.01	0.01
Carbonato de calcio	0.77	0.66	0.66	0.64	0.53	0.53
Premezcla*	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Sal, NaCl	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Medicamentos ^a	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Lisina HCL	0.18	0.19	0.20	0.22	0.23	0.24
L-Treonina	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
DL-Metionina	0.01	0.01	0.01	-----	-----	-----
Totales	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Nutrimientos Analizados

Nutriente	Fase 1 30 a 60 kg		Fase 2 60 a 85 kg	
	Control	Fitasa - EM	Control	Fitasa - EM
Materia Seca, %	90.23	89.23	89.76	91.21
Proteína Cruda, %	16.32	16.89	14.23	14.01
Cenizas, %	5.12	5.00	4.89	4.78
Calcio total,%	0.65	0.50	0.53	0.40
Fósforo total, %	0.27	0.17	0.22	0.09

* **VITAMINAS:** A 1600 UI; B₁ 200.56 mg; B₂ 800 mg; B₆ 400.16 mg; B₁₂ 4 mg; E 6,000 mg; D₃ 300 UI; K₃ 400.2; Niacinamida 5,000 mg; Ácido Pantoténico 2,769.30 mg; Biotina 16 mg; Ácido fólico 120 mg; Colina 52 g; **MINERALES:** Hierro 20,000 mg; Cobre 2000 mg; Zinc 20,000.16 mg; Manganeso 8,000.11 mg; Selenio 60 mg; Iodo 140.12; Cloruro de Sodio 0.36 g. ^a *Los medicamentos fueron aquellos que por rutina se usan en la granja. Premezcla vitamínica con y sin fitasa.

Cuadro 5. Digestibilidad fecal aparente en dietas basadas en Sorgo Experimento 1

Nutriente	Sin Fitasa	<i>A. niger</i> 500 U/kg	<i>P. lycci</i> 750 U/kg	P	EEM
Proteína Cruda, %	27.15	32.52	33.40	> 0.18	1.40
Materia Seca, %	77.85	78.36	78.80	> 0.20	0.34
Cenizas, %	28.36	32.01	31.03	> 0.20	0.92
Calcio, %	46.21 ^a	64.30 ^b	69.24 ^b	< 0.01	1.58
Fósforo, %	-19.52 ^a	25.22 ^b	21.97 ^b	< 0.01	2.16
Energía, %	73.97 ^a	77.23 ^b	77.92 ^b	< 0.02	0.52

*Literales diferentes en la misma fila son diferentes

Cuadro 6. Digestibilidad fecal aparente en dietas basadas en Sorgo-Canola Experimento 1.

Nutriente	Sin Fitasa	<i>A. niger</i> 500 U/kg	<i>P. lycci</i> 750 U/kg	P	EEM
Proteína Cruda, %	58.82	60.08	59.56	> 0.20	1.27
Materia Seca, %	76.80	77.02	77.23	> 0.20	0.59
Cenizas, %	7.32 ^a	31.18 ^b	28.80 ^b	< 0.01	2.04
Calcio, %	56.47 ^a	67.27 ^b	66.45 ^b	< 0.01	1.13
Fósforo, %	-3.16 ^a	27.61 ^b	29.61 ^b	< 0.01	1.79
Energía, %	74.66	76.07	76.20	> 0.20	0.76

*Literales diferentes en la misma fila son diferentes.

Cuadro 7. Excreción de fósforo en heces en dietas con sorgo Experimento 1

	Sin Fitasa	<i>A. niger</i> , 500 U/kg	<i>P. lycci</i> , 750 U/kg	P	EEM
Consumo MS*, kg/día	1.72	1.80	1.85	<0.03	0.557
P en heces, g/kg MS consumida	3.29 ^a	2.27 ^b	2.52 ^b	>0.20	0.017
MS excretada, kg/día	0.49 ^a	0.42 ^b	0.40 ^b	<0.05	0.234
P total excretado, g	5.66 ^a	4.08 ^b	4.99 ^b	<0.01	0.895

*Literales diferentes en la misma fila son diferentes. MS= Materia Seca

Cuadro 8. Excreción de fósforo en heces en dietas con sorgo-canola Experimento 1

	Sin Fitasa	<i>A. niger</i> , 500 U/kg	<i>P. lycii</i> , 750 U/kg	P	EEM
Consumo MS*, kg/día	2.35	2.46	2.18	>0.15	0.597
P en heces, g/kg MS consumida	4.22 ^a	3.22 ^b	3.45 ^b	<0.01	0.932
MS excretada, kg/d	0.66 ^a	0.55 ^b	0.56 ^b	<0.05	0.345
P total excretado, (g)	9.96 ^a	7.77 ^b	7.65 ^b	<0.01	0.859

*Literales diferentes en la misma fila son diferentes. MS= Materia Seca

Cuadro 9. Coeficientes de digestibilidad fecal aparente de las dietas Experimento 2*

EM, Mcal/kg	3.30	3.16	3.16	3.16	3.16	EEM
Fitasa, U/kg	0	0	250	500	750	
Materia Seca, % ^{a,b,c,d}	76.22	77.79	78.41	78.51	80.65	0.32
Energía, % ^{a,b,c,d}	78.20	76.42	77.14	78.28	80.54	0.33
Proteína Cruda, % ^{a,c,d}	66.05	65.58	63.82	66.78	71.92	0.29
Cenizas, % ^{a,d}	40.02	37.68	39.12	43.11	48.28	0.54
Fósforo, % ^{a,b,c,d}	47.24	33.88	35.10	43.23	48.71	0.29

^a Efecto del tratamiento (P<0.010); ^b Diferencias entre controles (P<0.06); ^c Control negativo vs niveles de fitasa (P<0.001); ^d Efecto lineal por la adición de la Fitasa (P<0.001) y *Medias de cuadrados mínimos.

Cuadro 10. Nutrientes Calculados Experimento 2.

EM, Mcal/kg	3.30	3.16	3.16	3.16	3.16
Fitasa, U/kg	0	0	250	500	750
Materia Seca, %	69.58	70.41	70.92	71.12	73.10
Energía, Mcal/kg	3.48	3.32	3.28	3.31	3.45
Proteína Cruda, %	10.82	10.92	10.63	11.12	11.98
Cenizas, %	2.02	1.84	1.91	2.10	2.36
Fósforo, %	0.24	0.15	0.15	0.18	0.22

Cuadro 11. Comportamiento productivo por 42 días en el Experimento 2

EM, Mcal/kg	3.30	3.16	3.16	3.16	3.16	
Fitasa, U/kg	0	0	250	500	750	EEM
Consumo diario de alimento, kg						
Hembras	2.177	2.189	2.197	2.190	2.091	
Machos	2.165	2.505	2.523	2.373	2.445	0.02
Ganancia diaria de peso, kg						
Hembras	0.762	0.687	0.735	0.710	0.762	
Machos	0.713	0.797	0.787	0.806	0.743	0.01
Eficiencia alimenticia (GDP/CDA)^a						
Hembras	0.352	0.315	0.337	0.326	0.365	
Machos	0.330	0.332	0.313	0.341	0.305	0.01

^a Interacción Tratamiento x Sexo (P<0.001); Peso inicial promedio: 39.7±2.4kg; Peso final promedio: 71.2±3.8; Ganancia diaria de peso promedio: 0.750g y *Medias de cuadrados mínimos.

Cuadro 12. Composición corporal de los cerdos al final del Experimento 2.

EM, Mcal/kg	3.30	3.16	3.16	3.16	3.16	
Fitasa, U/kg	0	0	250	500	750	EEM
Peso final, kg	70.36	71.44	71.50	71.38	70.84	0.59
Grasa dorsal, cm	1.58	1.52	1.59	1.47	1.49	0.07
Tejido Magro, kg	29.38	29.84	29.87	29.82	29.58	0.41
Ganancia de tejido magro libre de grasa, kg/día	0.32	0.33	0.34	0.33	0.33	0.01

Peso inicial promedio: 39.7±2.4kg

**Cuadro 13. Comportamiento Productivo del Ensayo (70 días)
Experimento 3.**

Variable	Control	Control +Fitasa	Fitasa - EM	P	EEM
Peso inicial, kg	32.66	32.13	31.40	>0.55	1.10
Consumo diario de alimento, kg	2.10	2.07	2.12	>0.81	0.03
Ganancia diario de peso, kg	0.79	0.81	0.79	>0.86	0.01
Eficiencia alimenticia	0.38	0.39	0.37	>0.29	0.01
Consumo de EM, Mcal/día*	6.52 ^a	6.68 ^b	6.52 ^a	<0.01	0.01
GDP/EM, kg/Mcal ^z	0.12	0.12	0.12	>0.98	0.02

* Literales diferentes en la misma fila denotan diferencia entre tratamientos; ^z Con el supuesto de liberación de 80 Kcal por efecto de la Fitasa, dando niveles calculados de EM en las dietas de 3.26 (Control), 3.34 (Control + Fitasa) y 3.26 Mcal de EM/kg (Fitasa - EM), en el promedio de las tres fases de alimentación usadas durante el experimento.

**Cuadro 14. Composición corporal al final del ensayo (70 días)*
Experimento 3.**

Variable	Control	Control + Fitasa	Fitasa - EM	P >	EEM
Grasa dorsal promedio, cm	1.52	1.62	1.55	0.16	0.02
Profundidad del lomo, cm	4.96	5.03	4.91	0.74	0.06
Cortes primarios (NMX), kg	38.18	39.10	37.87	0.11	0.23
Tejido magro libre de grasa, kg	36.29	37.28	35.87	0.12	0.27
Ganancia magro libre de grasa, kg/d	0.31	0.33	0.31	0.26	0.01

*No hubo efecto por la adición de la enzima a las dietas

Cuadro 15. Composición mineral de excretas Experimento 3.

Variable	Control	Control + Fitasa	Fitasa - EM	P	EEM
Cenizas en lodos, %	10.33 ^a	8.61 ^b	9.18 ^b	< 0.04	0.27
Nitrógeno en lodos, %	4.18 ^a	3.78 ^b	3.69 ^b	< 0.01	0.04
Nitrógeno en agua de charca, %	1.30 ^a	1.06 ^b	0.94 ^b	< 0.01	0.02
Nitrógeno total, %	2.28 ^a	1.98 ^b	1.87 ^b	< 0.01	0.02
Calcio en lodos, g/l	0.63 ^a	0.44 ^b	0.40 ^b	< 0.01	0.01
Calcio en agua de charca, g/l	0.42 ^a	0.18 ^b	0.15 ^b	< 0.01	0.01
Calcio total, g/l	0.48 ^a	0.26 ^b	0.22 ^b	< 0.01	0.01
Fósforo en lodos, g/l	0.67 ^a	0.51 ^b	0.49 ^b	< 0.02	0.02
Fósforo en agua de charca, g/l	0.28 ^a	0.19 ^b	0.16 ^b	< 0.01	0.01
Fósforo total, g/l	0.40 ^a	0.29 ^b	0.26 ^b	< 0.01	0.01

*Literales diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas.

on energy availability and lipid and protein deposition in growing pigs. J. Anim. Sci. 81: 2053-2062.

49. Steel G.D.R and Torrie H.J. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Mc Graw-Hill. 2^a ed.

50. Thompson U.L. 1993. Potencial health benefits and problems associated with antinutrients in foods. J. Food Sci. 51: 131-150

51. Uezen C.M., Posternak E.M., Bustelo O. 1998. Ácido fítico en dermatología. Act Terap Dermatol. Pags 1-3.

52. Williams P.E.V. 1995. Digestible amino acid for non ruminant animal: Theory and recent challenges. Anim. Feed Sci. Technol. 53:173.

53. Yi Z., Kornegay T.E., Ravindran V., Lindemann D.M. and Wilson H.J. 1996. Effectiveness of Natuphos[®] phytase in improving the bioavailabilities of phosphorous and other nutrients in soybean meal based semipurified diets for young pigs. J. Anim. Sci. 74: 1601-1611.