



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EVALUACIÓN DE ENZIMAS EXÓGENAS (FITASAS,
XILANASAS, AMILASAS Y PROTEASAS) EN DIETAS MAÍZ-
SOYA PARA GALLINAS DE POSTURA SOBRE EL
RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y CALIDAD DEL HUEVO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
LIZBETH PAOLA OLVERA GARCIA**

**ASESORES
DR. ARTURO CORTES CUEVAS
MSC. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ**





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.

DEDICATORIA

A mis padres Noemi y Noe; la culminación de esta etapa es el reflejo del esfuerzo para formarme y el apoyo incondicional que siempre me han brindado.

A mis hermanos Israel y Ricardo, por estar siempre, aún en los momentos más difíciles y enseñarme lo divertido de la vida.

A Daniel, quién fue mi compañero día a día en la universidad, siempre dándome soporte.

A mis abuelitas Carmen y Gloria, por todo el amor y palabras llenas de sabiduría que me motivan a seguir.

A toda mi familia, que ha estado presente me ha apoyado en cada paso de mi vida.

A mis amigas Metmeyali Barrera, Maya Manzano, Betzabe Ugalde, Lizbeth Figueroa y Ximena Campos, con quiénes compartí tanto tiempo de aprendizaje, trabajo y diversión.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por brindarme los conocimientos para mi futuro profesional, pero en especial por darme la oportunidad de conocer a personas tan valiosas durante mi camino.

Al Dr. Ernesto Ávila y el Dr. Arturo Cortés, por su invaluable tiempo, apoyo, paciencia y dedicación brindada; por ser un ejemplo no sólo de excelencia profesional, sino también de calidad humana.

A los doctores del CEIEPAv, Dr. Jorge, Dra. Alma, Dra. Pilar, Dra. Elizabeth, Dr. Ezequiel, Dr. Tomás, por todos los conocimientos compartidos.

A DuPont por permitir realizar mi trabajo de investigación con la facilitación de los productos utilizados.

Al Jurado:

Presidente: Dra. Gabriela Gómez Verduzco

Vocal: Dra. María Antonieta Castello Leyva

Secretario: Dra. Alma Selena Vázquez Delgado

Suplente: Dr. Arturo Cortés Cuevas

Suplente: Dr. David Ramos Vidales

Por sus valiosos comentarios y apoyo en la revisión del presente trabajo y por su asistencia en esta fecha tan importante para mí.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Situación actual de la avicultura: producción de huevo.....	2
1.3 Enzimas en nutrición animal.....	5
1.3.1 Historia de las enzimas exógenas en avicultura.....	7
1.3.2 Enzimas exógenas digestivas	8
2. JUSTIFICACIÓN.....	20
3. HIPÓTESIS.....	21
4. OBJETIVO	22
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
6. RESULTADOS.....	25
6.1 Parámetros productivos.....	25
6.2 Calidad de huevo.....	26
7. DISCUSIÓN.....	27
8. CONCLUSIONES.....	31
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
10. CUADROS.....	39

CUADROS

Cuadro 1. Composición nutricional de las dietas experimentales para gallina de postura Bovans White.....	39
Cuadro 2. Resultados promedio de los efectos principales de parámetros productivos en ocho semanas de experimentación en gallinas Bovans White.....	40
Cuadro 3. Datos promedio de los efectos principales de evaluación de la calidad del huevo en gallinas Bovans White.....	41
Cuadro 4. Resultados promedio de los efectos principales de los porcentajes de huevo roto, en fáfara, sucio y chico en gallinas Bovans White.....	42
Cuadro 5. Especificaciones de la liberación de nutrientes de las matrices de fitasa (Aextra Phy 10000 TPT) y XAP (Aextra XAP 101 TPT).....	43

RESUMEN

Olvera García Lizbeth Paola: Evaluación de enzimas exógenas (fitasas, xilanasas, amilasas y proteasas) en dietas maíz-pasta de soya para gallinas de postura sobre el rendimiento productivo y calidad del huevo (bajo la dirección del Dr. Arturo Cortes Cuevas y del MSc Ernesto Ávila González).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la combinación de enzimas XAP (xilanasas 1500 U/kg, amilasas 150 U/kg y proteasas 3000 U/kg), en dietas maíz- pasta de soya sin y con fitasa (600 FTU/kg) utilizando la matriz de liberación de nutrientes de esta última, sobre el comportamiento productivo y la calidad de huevo. Se emplearon 432 gallinas de estirpe Bovans White de 62 a 70 semanas de edad. Se utilizaron seis tratamientos en un arreglo factorial 2x3, con seis repeticiones de 12 gallinas cada uno. Un factor fueron dietas altas (17% PC) y bajas (15% PC) en proteína y 150 kcal/kg menos de EM, y el otro factor con y sin fitasas; así como la adición *on top* de XAP. Los resultados indicaron para porcentaje de postura incremento ($P < 0.05$) al factor XAP. Sin embargo, no existió diferencia ($P > 0.05$) al factor dietas. Para peso de huevo, hubo efecto ($P < 0.05$) al factor dieta con mayor peso en aves que recibieron las dietas altas en proteína y EM, sin existir diferencia ($P > 0.05$) al factor XAP. Para consumo de alimento y masa de huevo no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) a ambos factores. La conversión alimenticia, mejoró ($P < 0.05$) con las dietas altas en proteína, sin embargo, la suplementación *on top* de las dietas bajas en PC y EM ($P < 0.05$) se mejoró con XAP. Para las unidades Haugh, color de yema y grosor de cascarón no se encontraron diferencias ($P > 0.05$). La resistencia del cascarón aumentó ($P < 0.05$) en las dietas con fitasas. De los resultados obtenidos, se puede concluir que en dietas maíz- pasta de soya con fitasas y la suplementación de XAP mejoraron el comportamiento productivo y la calidad del huevo en gallinas Bovans White, además de reducir el porcentaje de inclusión de ingredientes en las dietas tales como pasta de soya, ortofosfato, aceite y sal.

Palabras clave: Gallina de postura, fitasas, xilanasas, amilasas, proteasas, parámetros productivos, calidad de huevo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Situación actual de la avicultura: producción de huevo.

La industria avícola, es para el consumidor mexicano, la principal fuente de proteína de origen animal; seis de cada 10 personas incluyen en su dieta productos avícolas como huevo y pollo. En 2018, la avicultura tuvo una participación del 63.3% de la producción pecuaria nacional: la producción de huevo representó el 28.2%, la producción de carne de pollo el 34.9% y la producción de pavo un 0.2% (UNA, 2019).

El huevo es una excelente fuente de proteína, característica dada por su equilibrado contenido de aminoácidos esenciales; contiene también una balanceada proporción de ácidos grasos saturados e insaturados; vitaminas y minerales. Es considerado también, como un alimento funcional, es decir, contiene compuestos a los que se atribuye alguna acción preventiva o benéfica para la salud, más allá a los relacionados con la nutrición (Covadonga, Fonseca y Quintana, 2013).

La alta preferencia del mexicano por el consumo de huevo se debe a la calidad de nutrientes que éste aporta, su alta digestibilidad, los bajos precios que generan sea un alimento de fácil acceso y su versatilidad al momento de preparar. Dichas características han influido para que el huevo, en 2019, sea incluido en la canasta básica mexicana (SIAP, 2019).

A nivel mundial, con un consumo per cápita de 22.98 kg, México ocupa el primer lugar en consumo de huevo y el tercero como productor, generando 2,802,656 toneladas en 2018. Los principales estados productores son: Jalisco (53%), Puebla (13%), Sonora (8%), La Laguna (5%), y Yucatán (5%) (UNA, 2019).

1.2 Fundamentos para la utilización de enzimas exógenas en avicultura.

Hoy en día, el mundo experimenta un crecimiento poblacional importante; con ello, la seguridad alimentaria, definida por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), como la situación que existe cuando todas las personas en todos los tiempos tienen acceso físico, económico y social a

suficientes alimentos nutritivos que representan su dieta necesaria para una vida activa y saludable, se convierte en el objetivo común de la sociedad.

Ante la necesidad de disponibilidad y acceso alimentario, la medicina veterinaria y la zootecnia ha colaborado en el desarrollo tecnológico, creando aves genéticamente más especializadas en producción de huevo y carne, buscando estrategias para mejorar la nutrición avícola, las condiciones de alojamiento y la prevención y control de enfermedades (Covadonga et al., 2013).

El alimento para aves es el rubro más representativo de los costos de producción de pollo y huevo, con el 63% y 62% respectivamente (UNA, 2019), lo que genera presión económica sobre los avicultores para hacer eficiente el uso de ingredientes comúnmente incluidos en las dietas y algunos otros alternativos, de menor calidad nutricional.

El rendimiento productivo 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. Es conocido que diferentes proporciones de algunos nutrientes en los alimentos no son digeridos ni absorbidos por el ave, y que existen diferentes factores que pueden interferir con la digestibilidad, absorción y utilización de nutrientes (Huisman, 1991). La disponibilidad de nutrientes en materiales vegetales puede ser afectada, entre otras cosas, por agentes naturales que forman complejos (Sebastián, Touchburn y Chavez, 1998). La mayoría de los ingredientes vegetales usados en las dietas de aves, contienen compuestos que pueden tener efectos anti nutricionales y afectar el rendimiento animal. Sin embargo, una proporción sustancial de ellos son potencialmente susceptibles a la modificación enzimática (Acamovic, 2001).

Los ingredientes utilizados en las dietas para aves aportan sustratos tales como carbohidratos estructurales y no estructurales, proteínas, lípidos, fósforo, entre otros, los cuales tienen limitantes en cuanto a su digestibilidad a nivel del tracto gastrointestinal. Del total del alimento, hasta el 20% son sustratos no digeribles. (Ravindran, 2013).

Los sustratos contenidos en los ingredientes que se utilizan en las dietas, pueden dividirse en 3 tipos, según la respuesta que generan por parte de las aves: 1) aquellos que estimulan la producción de enzimas en el tracto digestivo, por ejemplo: almidón, proteínas, lípidos; 2) aquellos que no estimulan la producción de enzimas y por lo tanto no son digeridos, por ejemplo: celulosa; y 3) aquellos que además de no estimular la producción de enzimas y no ser digeridos, tienen efectos anti nutricionales, por ejemplo: β -glucanos, pentosanos, fitato (Ravindran, 2013).

Del total de granos utilizados por la industria pecuaria en México, el 54% son importados, debido a que la producción nacional no satisface sus necesidades. México produce únicamente el 26% del maíz que consume, es decir, se importa 10.2 millones de toneladas, equivalentes al 74% (CONAFAB, 2018).

En dicho contexto, teniendo en cuenta el incremento de demanda por carne de pollo y huevo, y su efecto en la demanda de materias primas, será necesario evaluar la utilización de materias primas no tradicionales, los cuáles pueden contener altos niveles de fibra y polisacáridos no amiláceos (PNA), por lo que la inclusión de aditivos como las enzimas será esencial para maximizar su valor nutritivo.

El actual interés de la sociedad por el cuidado del medio ambiente incrementa la presión a los productores para reducir los residuos de nitrógeno, fósforo y trazas de minerales, en especial, para evitar la contaminación del agua. La utilización de enzimas es una estrategia para mejorar la eficiencia de utilización de nutrientes, reduciendo así los residuos en las excretas de las aves.

En la actualidad, la inclusión de enzimas exógenas en el alimento es indispensable como herramienta para maximizar el valor nutritivo de los ingredientes y su aprovechamiento por parte del ave. Las enzimas ayudan en el proceso digestivo mediante la mejora de la digestibilidad de las dietas en su conjunto, al aumentar la disponibilidad de minerales y la digestibilidad de proteínas y aminoácidos; con ello se reducen los costos de alimentación y del producto terminado (Hahn-Didde, 2014).

Al enfocarse en antinutrientes específicos de ciertos ingredientes del alimento, las enzimas exógenas adicionadas al alimento permiten que las aves digieran mejor los

nutrientes del alimento y mejoren su eficiencia; permiten al productor mayor flexibilidad en el tipo de materias utilizadas en la formulación de dietas. Además, las enzimas exógenas juegan un papel clave en la reducción del impacto negativo de la producción animal en el medio ambiente, al reducir la producción de desechos animales (Barletta, 2010).

1.3 Enzimas en nutrición animal.

Las enzimas son catalizadores biológicos, capaces de acelerar reacciones químicas sin experimentar modificación alguna, ni formar parte de los productos. Químicamente, son proteínas con una estructura molecular tridimensional altamente compleja de la cual depende su actividad catalítica (Wolfgang, 2004).

En una reacción catalizada por una enzima: 1) el sustrato es la sustancia sobre la que actúa la enzima, 2) el sustrato se une a una región concreta de la enzima, llamada centro activo. El centro activo comprende un sitio de unión, formado por aminoácidos que están en contacto directo con el sustrato, y un sitio catalítico, formado por los aminoácidos implicados en el mecanismo de la reacción; 3) son formados los productos y la enzima es capaz de iniciar un nuevo ciclo de reacción (Boyle, 2005).

Las reacciones químicas que se llevan a cabo en los seres vivos son catalizadas por enzimas, que, a diferencia de los catalizadores inorgánicos, catalizan reacciones específicas. Sin embargo, hay distintos grados de especificidad, hay algunas que son altamente específicas de sustrato, y otras poco específicas que se pueden ligar a una amplia gama de sustratos y catalizar muchos tipos de reacciones. Entre las enzimas poco específicas están las proteasas digestivas como la quimiotripsina, que rompe los enlaces amida de proteínas y péptidos de muy diversos tipos (Lehninger, 2006).

Por lo tanto, para lograr los máximos beneficios de la adición de enzimas, es necesario asegurarse de que las enzimas se elijan sobre la base de sustratos en los ingredientes utilizados en las formulaciones de alimentos. Además, se deben cumplir varias condiciones de reacción para que la enzima actúe, entre ellas el

contenido de humedad, temperatura, pH, concentración de enzima y concentración de sustrato (Wolfgang, 2004).

Para desarrollar su actividad catalítica, algunas enzimas requieren únicamente su estructura de aminoácidos; otras, requieren de la presencia de un cofactor. Este compuesto puede ser un ion inorgánico: Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} o Zn^{2+} ; o una molécula orgánica. Si al unirse establece una unión covalente se denomina grupo prostético, y si establece uniones de naturaleza débil y reversible se denomina coenzima. Muchas vitaminas o derivados de las mismas funcionan como coenzimas.

La nomenclatura es sencilla; se combina el nombre del sustrato de la enzima con el sufijo -asa. De esta manera, la enzima que hidroliza el fósforo fítico (o fitato) se llama fitasa. Las enzimas que participan en la digestión de proteínas son proteasas (Dale, 2006). Hay algunas que han mantenido sus nombres históricos, no están relacionados al sustrato o reacción, como la pepsina o la tripsina (Ruiz, 2011).

Desde 1961, la Unión Internacional de Bioquímica, clasifica las enzimas en seis diferentes clases, de acuerdo al tipo de reacción catalizada: oxidorreductasa, transferasa, hidrolasa, liasas, isomerasas y ligasas.

La actividad enzimática es una propiedad característica de las enzimas, definida como el efecto catalítico producido por la enzima, en proporción con la cantidad presente de ésta en el medio reactivo (Mandels, 1976). Generalmente, la temperatura y el pH ejercen una marcada influencia en la actividad y estabilidad de las enzimas y pequeñas variaciones de estos factores, pueden alterar de manera considerable su actividad (Klivanov, 1982). Las enzimas son estables a una temperatura óptima, que, al ser sobrepasada, produce la desnaturalización debido a su naturaleza proteica. El pH característico en el que trabajan la mayoría de las enzimas es de 4 a 6 (Wolfgang, 2004).

La naturaleza proteica de las enzimas tiene implicaciones importantes para su estabilidad durante la fabricación de alimentos a alta temperatura y el tránsito a través del tracto gastrointestinal. Pueden desnaturalizarse por calor y pH y también pueden estar sujetas a proteólisis por enzimas digestivas.

1.3.1 Historia de las enzimas exógenas en avicultura.

Desde la antigüedad, las enzimas han sido utilizadas en procesos de fermentación, por ejemplo, en la fabricación de quesos, pan, vino y cerveza. Luis Pasteur, en 1860, describió que la fermentación estaba íntimamente ligada con la estructura celular de las levaduras. En 1876 Willian Kuhne propuso el nombre de enzima, derivado de las palabras griegas en (en) y zyme (levadura), lo que se traduce como *en la levadura*. En 1897, Eduard Buchner probó que las enzimas podían extraerse de las células de las levaduras y usarse por sí mismas (Mandels, 1976). A partir de este descubrimiento, se empezó a extraer enzimas para su utilización en industrias tales como detergentes, fabricación de papel, tratamiento de cueros, farmacia, destilería, aceites, grasas, almidones y azúcares. En la década de 1980, inicia el desarrollo y aplicación de forma comercial de enzimas en la industria avícola, como una nueva clase de aditivos, jugando un papel importante en mejorar la eficiencia de producción de carne y huevo al cambiar el perfil nutricional de los ingredientes del alimento (Barletta et al, 2010).

La aplicación comercial de enzimas exógenas como un aditivo en nutrición animal tiene no más de 20 años. En un principio, el objetivo de la utilización de las enzimas fue mejorar la digestibilidad de los nutrientes, centrándose en eliminar los efectos antinutritivos de los polisacáridos no amiláceos (PNA), como los arabinosilanos y β -glucanos, de las dietas de engorda basados en granos viscosos como el trigo, centeno, cebada o triticale (Choct, 2006).

A inicios de la década de 1990, la aplicación de enzimas microbianas se extendió al uso de fitasas, principalmente en respuesta a una alta preocupación de la contaminación del medio ambiente por la excreción de fósforo en las excretas animales; también por la alta eficacia de las fitasas para degradar el fósforo fítico de los ingredientes vegetales.

Para finales de los años 1990's, la aplicación de las enzimas en nutrición de aves fue dirigida a los granos de cereales no viscosos (p.ej., maíz y sorgo), dada la evidencia de que los PNA de los granos de cereales viscosos son factores que

afectan la digestibilidad de los nutrientes, incluido el almidón, y aumentan la variabilidad en su calidad nutricional; y por otra parte porque la digestibilidad del almidón del maíz podría ser variable.

Posteriormente, la prohibición de ingredientes proteicos de origen animal generó la necesidad de utilizar ingredientes proteicos de origen vegetal como la soya o canola. En adición a los factores antinutricionales, especialmente que la soya contiene, se han identificado varias fracciones de carbohidratos como los PNA, los oligosacáridos α -galactósidos y a los β -mananos, de tener efectos negativos sobre la productividad del animal.

1.3.2 Enzimas exógenas digestivas

Todos los animales utilizan enzimas para digerir los nutrientes incluidos en el alimento, las cuales, pueden provenir de 4 fuentes: 1) las células de las vellosidades intestinales propias del animal, 2) los ingredientes de la dieta de origen vegetal (Maenz y Classen, 1998), 3) los microorganismos presentes en el intestino (Borda, 2016) y 4) microorganismos exógenos (Humer, 2014). El proceso digestivo del animal no es totalmente eficiente, las aves no pueden digerir entre el 15 y el 25% del alimento que consumen debido a los factores antinutricionales incluidos en los ingredientes, lo que interfiere en el proceso digestivo y/o a la carencia de enzimas específicas que descomponen ciertos componentes del alimento (Barletta, 2010).

En los sistemas de producción animal, el mayor costo es el alimento y la rentabilidad de la granja puede depender del costo relativo y del valor nutritivo de los ingredientes disponibles. Si los alimentos no son digeridos por el animal, tan eficientemente como deberían serlo, hay un costo para el productor y el medio ambiente. Complementar el alimento con enzimas específicas mejora el valor nutricional de los ingredientes del alimento, aumentando su digestibilidad (Chocht, 2006).

Las enzimas ayudan a degradar factores antinutricionales como la fibra o fitato, presentes en gran variedad de ingredientes. Los factores antinutricionales también pueden interferir con la digestión normal, resultando en una menor producción de

carne o de huevo, menor eficiencia de la alimentación, y también pueden desencadenar trastornos digestivos.

Las enzimas de interés en el presente trabajo son las exógenas digestivas, catalogadas como enzimas de degradación; éstas actúan sobre un sustrato específico que el animal normalmente no puede digerir o degradar con enzimas endógenas (Shimada, 2015).

Actualmente, la producción de enzimas se basa en dos métodos (Schang & Azcona, 2003) y puede ser a partir de hongos o bacterias (Ruiz, 2011). El primero es a partir de la fermentación de bacterias y hongos genéticamente modificados, de los cuales se producen enzimas simples, que pueden formar parte de un cóctel enzimático; el segundo se basa en la fermentación del hongo *Aspergillus niger*, pudiendo producir múltiples enzimas.

Los objetivos de la utilización de enzimas exógenas son: 1) suplementar las enzimas endógenas que el ave no es capaz de producir y 2) aumentar la digestibilidad de varios componentes de dieta (Rutz, 2016).

Las enzimas exógenas se utilizan para aumentar la disponibilidad de almidón, aminoácidos y minerales como el fósforo y el calcio de los ingredientes de las dietas. Además, se pueden utilizar para complementar las enzimas producidas por animales jóvenes donde, debido a un sistema digestivo inmaduro, la producción de enzimas puede ser inadecuada.

Otros beneficios de la utilización de enzimas exógenas son: incremento de la flexibilidad de utilización de materias primas alternativas, con la posibilidad de incluir ingredientes de baja digestibilidad y con ello reducir costos; reducción de la variación nutricional de los ingredientes; modifica microbiota intestinal, lo que favorece el crecimiento de especies benéficas y así optimiza la salud e integridad intestinal; reducción de excreción de heces (volumen y nutrientes como nitrógeno y fósforo) y con ello el impacto ambiental de la producción avícola; incrementa la uniformidad de parvada; y mejora la calidad de cama y bienestar animal debido a la reducción de la humedad en excretas (Ravindran, 2013; Rutz, 2016).

Las enzimas son proteínas que finalmente son digeridas o excretadas por el animal, sin dejar residuos en la carne ni en los huevos (Barletta, 2010).

Las enzimas se clasifican de acuerdo al sustrato sobre los que actúan. Actualmente, en la nutrición animal, se utilizan enzimas enfocadas a la degradación de fibra, almidón (carbohidrasas), proteína (proteasas) y fitato (fitasas) (Barletta, 2010).

Fitasas

El fósforo (P) es un mineral esencial para el organismo de los animales. Interviene en el metabolismo celular, desarrollo y mantenimiento de los huesos. Aproximadamente el 80% del P presente en las aves, forma parte de los huesos; el 20% restante se encuentra en diversos compuestos orgánicos que tienen un papel clave en el metabolismo (p.ej., ATP, creatinina, enzimas), en los ácidos nucleicos (ADN, ARN) y en los fosfolípidos de membrana (Vitti y Kebreab, 2010).

El alimento para aves debe contener P en cantidades que permitan un adecuado aporte durante cada fase de producción. La deficiencia de P en la dieta causa disminución de la productividad animal, y su exceso conduce a una menor eficiencia en la absorción, lo que resulta en una excreción alta en heces (Keshavarz y Nakajima 1993). En la actualidad, las principales fuentes de P son el P orgánico, contenido en los cereales, legumbres y semillas oleaginosas y las fuentes de P inorgánico.

Las dietas para aves se constituyen, principalmente, por ingredientes en los que el fósforo está en forma de fitato (Casey y Walsh, 2004), el cual representa aproximadamente dos tercios del total de P en ingredientes vegetales (Ravindran et al., 1995).

El ácido fítico (IP6) [mio-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis-dihidrógeno-fosfato] es un organofosforado, compuesto por un anillo mio-inositol de 6 carbonos; cada carbono se encuentra unido a un grupo fosfato (Cooper & Hausman, 2007). En función de los complejos que forma, se le denomina fitato o fitina. Los fitatos son sales de IP6 con diferentes cationes, mientras que la fitina es el IP6, enlazado a los cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} (Sauveur, 1989).

Además de contener el P, el fitato se considera un factor antinutricional, debido a su elevado potencial quelante, formando a pH neutro, sales insolubles con numerosos cationes di y trivalentes como el Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Fe, Mn; impidiendo por lo tanto su absorción a nivel intestinal (Sauveur, 1989).

También puede formar complejos con las proteínas y aminoácidos de la dieta (Bedford et al., 2001) y posiblemente con el almidón (Selle et al., 2012), impidiendo su correcta digestión. Además, el fitato puede inhibir la actividad de ciertas enzimas como: α amilasas, proteasas (tripsina y pepsina) y lipasas (Liu et al., 2010) al formar complejos con ellas.

Las aves no utilizan el fitato como fuente de P debido a la limitada fitasa endógena producida en el tracto digestivo (Maenz y Classen, 1998). La baja disponibilidad de P en las dietas a base de plantas conduce a la suplementación de P inorgánico en las dietas. Debido a que el P es uno de los nutrientes más caros en las dietas de aves (Naves et al., 2016), el aumento de P inorgánico en la dieta aumenta el costo del alimento.

Las fitasas son hidrolasas capaces de catalizar la hidrólisis gradual de IP6 (Adeola y Cowieson, 2011) generando productos como el inositol-5 fosfato (IP5), luego el inositol-4 fosfato (IP4), inositol-3 fosfato (IP3), inositol-2 fosfato (IP2) y por último el inositol-1 fosfato (IP1), siendo los tres últimos fuente de P capaces de atravesar la barrera intestinal (Pointillart, 1994).

La fitasa es capaz de iniciar la desfosforilación gradual de fitato, actúa hidrolizándolo en ésteres de fosfato de mio-inositol más pequeños a través de una serie de reacciones de desfosforilación, liberando así fósforo y eliminando la característica antinutricional (Konietzny y Greiner, 2002).

Las fitasas se clasifican de acuerdo a:

a) Sus estructuras 3D y mecanismos catalíticos relativos (Lei et al., 2013). Se agrupan como fitasa ácida de histidina (HAPhy) (Van et al., 1991), fitasa de hélice b (BPPhy) (Ha et al., 1999), fitasa ácida púrpura (PAPhy) (Hegeman, 2001) y tirosina proteica fitasa (Chu et al., 2004).

b) El pH en el que las enzimas funcionan de manera óptima: dividiendo en fitasas ácidas y alcalinas (Mullaney et al., 2003).

c) La posición del carbono del anillo de mio-inositol de fitato en el que se inicia la desfosforilación, las cuales las divide en: 3-fitasas, 6-fitasas y 5-fitasas, empezando respectivamente la desfosforilación del mio-inositol en la posición 3, 6 y 5 (Wyss, 1999).

La actividad de la fitasa clásicamente se define en unidades de fitasa (FTU) y se expresa en FTU por kg. Una FTU es la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 mol de ortofosfato inorgánico por minuto a partir de 0,0051 mol/L-1 de fitato de sodio a pH 5,5 y a una temperatura de 37 °C (AOAC, 2002).

Las fitasas son producidas naturalmente por plantas como el maíz, arroz, trigo (Nagai y Funahashi, 1962) animales tales como terneros (McCullum y Hart, 1980), aves, reptiles, peces (Rapoport et al., 1941); y por microorganismos, incluidas bacterias, hongos y levaduras (Selle y Ravindran, 2008; Prasad et al., 2015).

La fitasa utilizada comercialmente debe alcanzar ciertos criterios fisicoquímicos, como lo son: tener un amplio rango de pH de trabajo, ser termoestable y tener una alta actividad específica (Dahiya, 2016) y poseer estabilidad en el tracto digestivo superior de los animales monogástricos.

Las fitasas microbianas exógenas son aquellas fitasas que se producen en los microorganismos, principalmente en bacterias y hongos, por ejemplo, en especies de *Buttiauxella*, *Aspergillus niger* y *Escherichia coli* (Selle y Ravindran, 2008).

La fitasa ideal es la que tiene la capacidad de cumplir al menos tres de las principales características biológicas, es decir, debe ser eficiente en la liberación de fósforo del fitato en el tracto digestivo, estabilidad durante el proceso de calentamiento en el procesamiento de alimentos y durante el almacenamiento y su producción debe ser económica (Lei y Stahl, 2001).

Los principales sitios de degradación de fitatos por fitasas son el buche, el proventrículo y la molleja con relativamente poca degradación en el tracto gastrointestinal distal. En mamíferos el 40-50% de la actividad de la fitasa se

observa en el estómago y del 16-31% en el intestino delgado anterior (Yi, 1996). En el caso de las gallinas se encontró que la fitasa degradó el 58% del fitato al pasar por el tracto gastrointestinal y medir su concentración en el íleon (Van der Klis et al, 1997).

La alta utilización de fitasas exógenas en dietas para aves evidencia la importancia del fitato como un factor antinutricional (Selle *et al*, 2015). Se utiliza en las dietas de aves para liberar P y otros minerales como el Ca, reducir la excreción de P en heces (Selle y Ravindran, 2007, Zyla et al., 2012), y reducir el costo del alimento (Ponnuvel et al., 2014). También, las fitasas exógenas pueden liberar nutrientes como la proteína y otros minerales e incrementar su digestibilidad, especialmente en dietas deficientes (Mosenthin y Broz; 2010). Además, las fitasas constituyen una estrategia de mitigación del impacto ambiental al reducir la excreción de fósforo al medio ambiente (Sanmiguel, 2011).

Carbohidrasas

Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la materia orgánica de la Tierra y tienen varias funciones en los seres vivos. Carbohidratos como el almidón en vegetales y el glucógeno en animales, son capaces de liberar con rapidez glucosa, el combustible energético primario indispensable para las funciones celulares. Un gran número de moléculas contienen carbohidratos, por ejemplo, el ATP, la unidad biológica de energía libre; y coenzimas como NAD⁺, FAD y CoA, entre otras. Los carbohidratos están presentes en los vegetales en alta proporción, frecuentemente sobrepasan el 75% de la materia seca, debido a su fácil elaboración mediante los mecanismos de fotosíntesis (Cárabez, 2013).

Los carbohidratos, se conocen también como azúcares, disacáridos o glúcidos; son compuestos orgánicos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno; en algunos tipos de carbohidratos participan también azufre, fósforo y nitrógeno. Se clasifican según el número de unidades estructurales de azúcares sencillos en: monosacáridos (p.ej., glucosa y fructosa), disacáridos (p.ej., lactosa) y oligosacáridos (p.ej., rafinosa); mientras que los carbohidratos de alto peso molecular se conocen como polisacáridos (p.ej., almidón, celulosa) (Cárabez, 2013).

Los carbohidratos presentes en las plantas proporcionan energía y fibra (Barletta,2010). La fuente de energía más económica es la proveniente de los cereales, el maíz, el trigo, la cebada, etc. En México, las dietas para pollo de engorda y gallina de postura se basan principalmente en maíz-sorgo y pasta de soya (Ávila,2001).

En la nutrición animal, pueden clasificarse en términos generales en aquellos que se dirigen a los polisacáridos no amiláceos (fibra) o al almidón (Barletta,2010). Para controlar la calidad variable de los cereales, sobre todo del maíz y mejorar la digestibilidad de los nutrientes, las enzimas exógenas como la xilanasa y la amilasa se utilizan cada vez más en las dietas para aves en producción (Cowieson, 2010)

Amilasas

El almidón es el principal componente energético del maíz y proporciona más de la mitad del contenido de energía metabolizable aparente (AME) de las dietas de las aves (Cowieson et al., 2005).

El almidón es un homopolisacárido constituido por unidades de D-glucosa que forman el enlace glucosídico mediante enlaces tipo α (1-4) y α (1-6). El almidón está constituido por dos tipos de agrupaciones moleculares: amilosa y amilopectina, la cual constituye el 80% del almidón. La amilosa se caracteriza por sus cadenas largas, no ramificadas y por lo general forman una estructura helicoidal. La amilopectina es un polímero de D-glucosa de cadenas ramificadas de longitud media (24 a 30 unidades por ramificación). Los enlaces glucosídicos de la cadena principal son del tipo α (1 \rightarrow 4), siendo a nivel de la ramificación enlaces α (1 \rightarrow 6). La amilopectina es muy viscosa y fácilmente hidrolizada por la amilasa (Cárabez, 2013).

La digestión del almidón en las aves ocurre por acción de la amilasa pancreática, al momento de entrar en contacto con los polímeros de almidón ingeridos. La amilasa producida en el páncreas hidroliza la amilosa en maltosa y maltotriosa, y la amilopectina en maltosa, maltotriosa y dextrinas; después, estos oligosacáridos son degradados aún más a glucosa por la acción de la maltasa e isomaltasa en la

superficie de las vellosidades, para así ser absorbida y obtener energía (Moran, 1985).

El grado de digestibilidad del almidón en los ingredientes alimenticios a base de plantas varía de acuerdo con los niveles de almidón resistente, tamaño de gránulo de almidón, composición de almidón y encapsulación de almidón. Las diferencias en la genética de las plantas, las condiciones de cultivo, las condiciones de cosecha, la manipulación, el secado, el almacenamiento y los procesos de fabricación de alimentos son factores que contribuyen a la variabilidad en la digestibilidad del almidón (Barletta, 2010).

Las amilasas descomponen el almidón en granos, subproductos de granos y algunas proteínas vegetales. Al aumentar la digestibilidad del almidón, las amilasas potencialmente permiten que las aves extraigan más energía del alimento, lo que puede convertirse eficazmente en producción de carne y huevo. Además, la amilasa también permite el uso de granos menos cocidos en la dieta, con los beneficios resultantes en la reducción de los costos de alimentación (Barletta, 2010).

Xilanasas

El almidón, las proteínas y los lípidos pueden degradarse fácilmente por el sistema digestivo de las aves, mientras que la mayoría de los PNA permanecen intactos debido a la falta de actividades enzimáticas específicas (Paloheimo, 2010). Los efectos antinutricionales de los "cereales viscosos" (cebada, trigo, centeno, avena y triticale) están asociados con una mayor viscosidad intestinal causada por β -glucanos y arabinoxilanos solubles presentes en esos cereales (Bedford y Morgan, 1996).

Los PNA se encuentran en las paredes celulares de las plantas. Hay dos tipos principales de ellos: solubles e insolubles. Los PNA puede actuar como antinutriente de varias maneras: 1) algunos nutrientes como el almidón y proteína quedan encapsulados dentro de las paredes celulares fibrosas insolubles. Las aves no pueden acceder a estos nutrientes para ser absorbidos, debido a que no producen enzimas capaces de digerir los PNA de las paredes celulares. 2) Los PNA solubles se disuelven en el intestino de las aves, reteniendo gran cantidad de agua y

formando geles viscosos que encapsulan nutrientes y reducen la velocidad de digestión y el paso del bolo alimenticio a través del intestino. 3) Los PNA aumentan el volumen en el intestino, lo que reduce a su vez, el movimiento del alimento, el consumo de alimento y el crecimiento del animal (Barletta, 2010). Además, se sabe que el aumento de la viscosidad de la solución reduce la velocidad de paso de la alimentación y aumenta las poblaciones microbianas en el intestino delgado (Feighner y Dashkevicz, 1988).

Las dos enzimas principales utilizadas para degradar los PNA en la alimentación animal son xilanasas y β -glucanasa. Las xilanasas descomponen los arabinoxilanos, particularmente de los granos y sus subproductos (Barletta, 2010). Los resultados de varios estudios indican que las enzimas pueden mejorar el rendimiento animal también con los cereales no viscosos como el maíz y el sorgo (Choct, 2006).

Como consecuencia, se asume ampliamente que la capacidad de β glucanastas y xilanasas para degradar las paredes celulares de las plantas conducen a la liberación de nutrientes de las células de la capa de endospermo y aleurona. Por lo tanto, este mecanismo es considerado importante para mejorar el valor de la energía de alimentación. Además del valor energético adicional obtenido por la inclusión de xilanasas, hay mayor flexibilidad para incluir ingredientes con diferentes calidades. La suplementación con enzimas permite un mayor uso de materias primas de menor valor nutricional. Estos incluyen subproductos, como el salvado, que son típicamente ricos en PNA (Paloheimo, 2010).

Las xilanasas se han recomendado tradicionalmente para las dietas a base de trigo. Debido a la compleja estructura de los cereales, se ha demostrado que se puede obtener un mejor rendimiento mediante combinaciones apropiadas de diferentes actividades enzimáticas (Dusterhöft et al., 1993).

Los arabinoxilanos son componentes de las paredes celulares del endospermo y la aleurona, son impermeables al ataque enzimático en el intestino delgado y debido a esto evitan el acceso de enzimas endógenas (Pettersson y Aman, 1989). Los xilanos consisten en una cadena principal de residuos de β -D-xilopiranosilo unidos por un enlace 1, 4. Un residuo puede ser sustituido con L-arabinosa, formando

arabinosilanos. La xilanasas, a diferencia de la amilasa libera energía de la porción fibrosa de los granos y subproductos de los granos. Degrada la cadena de xilanos de forma aleatoria produciendo xilo-oligosacáridos lineales y ramificados con un bajo grado de polimerización (Bedford y Partridge 2010).

Proteasas

Las proteínas son biomoléculas formadas básicamente por C, H, O y N. Pueden además contener S y en algunos casos, P, Fe, Mg y Cu. La proteína se compone por polímeros de aminoácidos, los cuales consisten en un grupo amino y un grupo carboxilo; se encuentran unidos mediante enlaces peptídicos. La estructura primaria de una proteína es determinante en la función que cumplirá (Laguna 2002).

Las proteínas son cadenas de aminoácidos que se pliegan adquiriendo una estructura tridimensional que les permite llevar a cabo una gran variedad de funciones. Las proteínas desempeñan un papel fundamental en los seres vivos y son las biomoléculas más versátiles y más diversas. Realizan una enorme cantidad de funciones diferentes, entre ellas funciones estructurales, enzimáticas y transportadoras.

La importancia de las proteínas en la nutrición se demuestra por las numerosas funciones que desarrollan en el organismo animal. Son constituyentes indispensables de todos los tejidos del animal, la sangre, los músculos, las plumas, etc. Constituyen alrededor de la quinta parte del peso del ave y aproximadamente la séptima parte del peso del huevo (Cuca, 1963).

La digestión de las proteínas inicia en el proventrículo de las aves, mediante la adición de pepsinógeno, precursor de la pepsina, la cual se activa en un pH ácido. La pepsina es una endoproteasa, que hidroliza enlaces peptídicos que contienen fenilalanina, tirosina y leucina (Piper y Fenton, 1965). Al entrar al intestino delgado, el bolo entra en contacto con proteasas producidas en el páncreas. La mayoría de las proteasas se sintetizan como proenzimas inactivas (zimógenos), estas incluyen quimotripsinógeno, tripsinógeno, proelastasa y procarboxipeptidasas, las cuales, son activadas por la proteasa tripsina. La tripsina, la quimotripsina y la elastasa son

endoproteasas de la familia de las serina-proteasas. La tripsina hidroliza péptidos que contienen aminoácidos básicos (lisina y arginina), la quimotripsina hidroliza parte de las proteínas con enlaces de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptófano) y la elastasa hidroliza en el sitio de aminoácidos pequeños no cargados (como alanina, glicina y serina). Todas estas endoproteasas liberan pequeños oligopéptidos, que se degradan aún más por las carboxipeptidasas, estas hidrolizan oligopéptidos que liberan aminoácidos libres, que pueden ser absorbidos por el animal. (Kraut, 1977).

Las proteasas son enzimas que digieren proteínas que se utilizan para descomponer las proteínas de almacenamiento en diversos materiales vegetales y antinutrientes proteicos en proteínas vegetales. Las semillas, particularmente de plantas leguminosas como la soya, contienen altas concentraciones de proteínas de almacenamiento. Las proteínas de almacenamiento son proteínas generadas principalmente durante la producción de semillas y almacenadas en la semilla para proporcionar una fuente de nitrógeno para el embrión en desarrollo durante la germinación. Las proteínas de almacenamiento pueden unirse al almidón. Las proteasas pueden ayudar a descomponer las proteínas de almacenamiento, liberando almidón rico en energía que luego puede ser digerido por el animal (Barlett, 2010).

Dos antinutrientes proteicos principales son los inhibidores de tripsina y las lectinas. Los inhibidores de tripsina se encuentran en las proteínas vegetales crudas, como la soya. Pueden inhibir la digestión ya que bloquean la enzima tripsina, que es secretada por el páncreas y ayuda a descomponer las proteínas en el intestino delgado. Las lectinas son proteínas de unión a azúcar que también han demostrado reducir la digestibilidad.

Si bien es una práctica común calentar productos de soya durante el procesamiento para reducir tanto los inhibidores de tripsina como las lectinas, el procesamiento excesivo de calor reducirá la disponibilidad de aminoácidos, en particular lisina. Por lo tanto, la harina de soya procesada de manera óptima contendrá niveles residuales de inhibidores de tripsina y lectinas. Las proteasas pueden usarse para reducir los

niveles de inhibidores de tripsina y lectinas, mejorando así la digestibilidad de las proteínas.

La proteasa está recibiendo más atención como una herramienta eficaz para aumentar la digestión de aminoácidos, mejorar el rendimiento del crecimiento y reducir el costo del alimento. También se ha observado el efecto de la proteasa más allá de la liberación de aminoácidos, como la mejora del desarrollo intestinal de los pollos de engorde (Wang et al., 2008).

Con estos antecedentes, el objetivo del presente estudio fue evaluar la adición de enzimas exógenas (fitasas, xilanasas, amilasas y proteasas) en dietas maíz-soya para gallinas de postura Bovans White de 62 a 70 semanas de edad y su efecto en el rendimiento productivo y calidad interna y externa del huevo.

2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, los nutriólogos presentan grandes desafíos al momento de formular: la inclusión de ingredientes alternativos como los subproductos, la necesidad de formular dietas con nutrientes altamente digestibles, la disminución de costos de alimentación incrementando la productividad, la necesidad de reducción de contaminantes del medio ambiente como el fósforo proveniente de las excretas de las aves. Estos factores han conducido a que las enzimas fitasas, carbohidrasas y proteasas sean una herramienta insustituible en el alimento para gallinas de postura, independientemente de la cantidad o tipo de sustrato contenido en él.

Mediante la utilización de productos comerciales multienzimáticos, se ha demostrado que hay mejora en el rendimiento de las aves y un aumento en la digestibilidad de los nutrientes incluidos en la dieta. La presente investigación evaluó la acción de la enzima fitasa y su combinación con xilanasas, amilasas y proteasas en dietas maíz soya con reducción en fósforo disponible, EM y PC para gallinas Bovans White.

3. HIPÓTESIS

La adición de fitasas, en dietas maíz-pasta de soya con 17 o 15% de proteína para gallina de postura Bovans White de 62 semanas de edad mejora los parámetros productivos (porcentaje de postura, masa de huevo, peso promedio de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia) y calidad de huevo (Unidades Haugh, color de yema y resistencia del cascarón) con la adición de amilasas, xilanasas y proteasas.

4. OBJETIVO

Evaluar el comportamiento productivo (porcentaje de postura, masa de huevo, peso promedio de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia) de gallina Bovans White de 62 semanas de edad, con y sin la adición de fitasas, proteasas, amilasas y xilanasas en dietas maíz-soya altas y reducidas en proteína y energía metabolizable.

Medir la calidad de huevo (Unidades Haugh, color de yema del huevo y resistencia del cascarón de gallina) en gallinas Bovans White de 62 semanas de edad, con y sin la adición de fitasas, proteasas, amilasas y xilanasas en dietas maíz-soya altas y reducidas en proteína y energía metabolizable.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó en las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.Av), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en la calle Manuel M. López, s/n de la Colonia Santiago Zapotitlán en la Alcaldía Tláhuac, CDMX.

Para el trabajo de investigación se utilizaron 432 gallinas de postura de la línea Bovans White, de 62 semanas de edad, distribuidas completamente al azar en 6 tratamientos con 6 réplicas, cada una de 12 gallinas. La duración del experimento fue de 8 semanas. Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 3; donde un factor fueron las dietas (normal y reducida en PC y EM) y el otro factor la inclusión de enzimas: sin enzimas, con fitasa y con fitasa más xilanasas, amilasas y proteasas.

Se emplearon dos dietas (Cuadro 1), la primera con 17% de PC y 2850 Kcal/kg de EM y la segunda con 15% de proteína y 2700 Kcal/kg de EM con base en maíz-pasta de soya, con y sin la adición de fitasas (600 FTU/kg) utilizando la matriz de liberación de nutrientes de esta última y la adición *on top* de enzimas XAP (xilanasas 1500 U/kg, amilasas 150 U/kg y proteasas 3000 U/kg).

Las dietas se describen a continuación:

T1: Control positivo, dieta maíz-soya alta en PC y EM, sin enzimas.

T2: Como 1 con fitasa.

T3: Como 1 con fitasa + XAP *on top*

T4: Control Negativo, dieta maíz-soya baja en PC y EM.

T5: Como 4 con fitasa.

T6: Como 4 con fitasa + XAP *on top*

Se proporcionó agua *ad libitum* y fue restringido a 110g el alimento por ave/día. Se empleó un calendario de iluminación de 16 horas luz/ave/día hasta el término del estudio.

Diariamente se pesó y contabilizó el huevo limpio, sucio, roto, chico, y fáfara. Semanalmente se calcularon los siguientes parámetros: peso promedio de huevo, masa de huevo, porcentaje de postura, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de huevo sucio, roto y fáfara.

Se realizó la evaluación de calidad de huevo a las 4 y 8 semanas del experimento tomando en cuenta las siguientes mediciones:

- Peso del huevo: mediante una báscula digital, con capacidad de 5 kg.
- Altura de la albúmina: se midió con el sistema QCD.
- Color de la yema: la medición se realizó con el abanico de DSM.
- Grosor de cascarón: se utilizó un micrómetro digital.
- Resistencia del cascarón: se utilizó un texturómetro (instrumento de medición Digital Egg Tester DET 6000 series).

Los datos de las variables obtenidas fueron analizados con un Análisis de Varianza para un Diseño Completamente al Azar para un arreglo factorial 2x3. En caso de existir diferencias estadísticas significativas en el ANDEVA, se fijó un nivel de significancia del 5% para todas las técnicas estadísticas empleadas ($P < 0.05$). Los datos se sometieron a un análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey. Para el análisis estadístico se empleó el paquete estadístico SPSS versión 17.0.

6. RESULTADOS

6.1 Parámetros productivos

Los resultados promedio del desempeño productivo acumulado durante ocho semanas de experimentación, se pueden observar en el Cuadro 2. Para las variables, porcentaje de postura, consumo de alimento, conversión alimenticia, masa de huevo y peso de huevo no se encontró interacción entre las dietas y las enzimas ($P>0.05$).

Se puede apreciar que las enzimas tuvieron efecto sobre el porcentaje de postura ($P<0.05$), con mayor postura en las gallinas suplementadas con fitasas y XAP (90.5%) en comparación con el tratamiento sin enzimas (87.7%) y el tratamiento suplementado únicamente con fitasas (87.2%). No se encontraron cambios significativos ($P>0.05$) entre dietas, aunque numéricamente si se observó un porcentaje mayor de las gallinas con alta PC y EM (89.5%) comparado con la dieta baja en nutrientes (87.5%).

Se observó también, que el peso promedio de huevo de las gallinas alimentadas con la dieta alta en PC y EM fue mayor ($P<0.05$), a diferencia de las aves que recibieron la dieta baja en nutrientes (61.9 vs 60.9g). En cuanto a las dietas sin enzimas, con fitasas y con fitasas + XAP, no se encontraron diferencias ($P>0.05$). Para consumo de alimento y masa de huevo, se encontraron resultados similares ($P>0.05$) entre dietas altas y bajas y entre dietas suplementadas o no con enzimas.

En lo que se refiere al Índice de conversión alimenticia, se observó diferencia ($P<0.05$) tanto a la dieta como al factor enzimas; con mejor conversión alimenticia en los tratamientos que recibieron la dieta control alta en PC y EM (1.86) comparada con las que recibieron la dieta baja en PC Y EM (1.94). En cuanto al factor enzimas los tratamientos suplementados con fitasas y XAP tuvieron mejor ($P<0.05$) conversión alimenticia (1.83) respecto a los tratamientos sin enzimas (1.93) y el suplementado con fitasas (1.95).

6.2 Calidad de huevo

En el Cuadro 3, se muestran los datos promedio obtenidos en las pruebas de calidad de huevo. Para las variables Unidades Haugh, color de yema, grosor y resistencia del cascarón no se encontró interacción entre los factores dieta y enzimas ($P>0.05$).

Los resultados obtenidos para unidades Haugh, color de yema y grosor de cascarón no mostraron diferencias ($P>0.05$) a los factores dieta y enzimas. Sin embargo, se observó un efecto sobre la resistencia del cascarón ($P<0.05$), siendo mayor en los tratamientos con fitasas (4256 kg/cm^2) y con fitasas + XAP (4228 kg/cm^2) comparado al tratamiento sin enzimas (3761 kg/cm^2). La dieta no tuvo efecto ($P>0.05$) sobre la resistencia del cascarón.

Los datos promedio de los porcentajes de huevo roto, huevo en fáfara, huevo sucio y huevo chico se pueden observar en el Cuadro 4. Para estas variables, no se encontró interacción ($P>0.05$) entre ambos factores.

Se puede apreciar qué sobre el porcentaje de huevo roto, huevo en fáfara y huevo sucio no existió efecto ($P>0.05$) de las dietas ni las enzimas, con resultados similares entre tratamientos. Sin embargo, la dieta tuvo efecto ($P<0.05$) sobre el porcentaje de huevo chico, siendo mayor en la dieta baja en PC y EM (0.4%) comparado con la dieta alta en PC y EM (0.1%). No se mostró efecto ($P>0.05$) al factor enzimas; se obtuvieron datos similares entre tratamientos.

7. DISCUSIÓN

La inclusión de enzimas exógenas fitasas y XAP para formular los alimentos balanceados, altos y bajos en PC (aminoácidos) y EM en este estudio tuvieron un efecto positivo sobre los resultados de parámetros productivos y la calidad de huevo, demostrando que fueron una herramienta para maximizar el valor nutritivo de los ingredientes (maíz-pasta de soya) y su aprovechamiento por parte del ave.

Los resultados fueron similares entre el tratamiento testigo y los tratamientos bajos en PC y EM suplementados con fitasas y XAP, por lo que, la inclusión de las enzimas disminuyó el porcentaje de ingredientes utilizados en las dietas tales como pasta de soya (12%), ortofosfato (39%), aceite de soya (78%) y sal (12%), reduciendo así costos de alimentación. Las enzimas ayudan en el proceso digestivo mediante la mejora de la digestibilidad de las dietas en su conjunto, al aumentar la disponibilidad de minerales y la digestibilidad de proteínas y aminoácidos; con ello se reducen los costos de alimentación y del producto terminado, como señala Hahn-Didde (2014). Además, las enzimas exógenas juegan un papel importante en la reducción del impacto negativo al medio ambiente, al reducir la excreción de contaminantes como el fósforo y nitrógeno (Barletta, 2010).

En los sistemas de producción animal, el mayor costo es el alimento y la rentabilidad de la granja puede depender del costo relativo y del valor nutritivo de los ingredientes disponibles. Si los alimentos no son digeridos por el animal en forma eficiente podrían afectar el costo por alimento y contaminación del medio ambiente. Por esto, al complementar el alimento con enzimas exógenas digestivas, mejora el valor nutricional de los ingredientes del alimento, aumentando su digestibilidad (Chocht, 2006).

Efecto de las enzimas sobre fósforo fítico

El alimento para aves debe contener P en cantidades que permitan un adecuado aporte durante cada fase de producción. La deficiencia de P en la dieta causa

disminución de la productividad animal, y su exceso conduce a una menor eficiencia en la absorción, lo que resulta en una mayor eliminación en las excretas (Keshavarz y Nakajima, 1993). En la actualidad, las principales fuentes de P son el P orgánico, contenido en los cereales, legumbres y semillas oleaginosas y fuentes de P inorgánico, así como el empleo de las fitasas.

Las dietas para aves se elaboran con ingredientes donde el contenido de fósforo se encuentra en forma de fitato (Casey y Walsh, 2004), el cual representa aproximadamente dos tercios del total de P en ingredientes vegetales (Ravindran *et al.*, 1995). Las aves no utilizan el fitato como fuente de P debido a la limitada fitasa endógena producida en el tracto digestivo (Maenz y Classen, 1998). La baja disponibilidad de P en las dietas a base de vegetales conduce a la suplementación de P inorgánico en las dietas. Debido a que el P es uno de los nutrientes más caros en las dietas de aves (Naves *et al.*, 2016), el aumento de P inorgánico en la dieta aumenta el costo del alimento.

Además de contener el P, el fitato se considera un factor antinutricional, debido a su elevado potencial quelante, formando a pH neutro, sales insolubles con numerosos cationes di y trivalentes como el Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Fe, Mn; impidiendo por lo tanto su absorción a nivel intestinal (Sauveur, 1989). También puede formar complejos con las proteínas y aminoácidos de la dieta (Bedford *et al.*, 2001) y posiblemente con el almidón (Selle *et al.*, 2012), impidiendo su correcta digestión. Además, el fitato puede inhibir la actividad de ciertas enzimas como: α amilasas, proteasas (tripsina y pepsina) y lipasas (Liu *et al.*, 2010) al formar complejos con ellas. En el presente experimento se confirmó que la adición de enzimas fitasas, amilasas, proteasas y xilanasas tuvieron un efecto sinérgico en porcentaje de postura, peso de huevo y mayor resistencia del cascarón.

La inclusión de 600 FTU/kg de fitasas en las dietas, en esta investigación, permitió la reducción de cantidad de ortofosfato en la dieta, sin algún efecto negativo sobre los parámetros productivos, concordando con diversas investigaciones (Van der Klis, 1997; Um y Paik, 1999; Bolin *et al.*, 2000 y Fernández *et al.*, 2019) en los cuales se indica que la reducción de fósforo disponible y la adición de 300 a 600 FTU/kg

de fitasas en dietas maíz-pasta de soya permitieron el mantenimiento de los diversos parámetros productivos.

Adicional al efecto quelante de la molécula de fitato, existe evidencia de que algunas fibras solubles, como los son los PNAs solubles, son responsables también de la quelación de nutrientes. Los PNAs solubles y el ácido fítico se encuentran en la capa celular de la aleurona de los granos (Frolich, 1990). Parkkoen *et al.* (1997) mencionó que la xilanasas aumentaba la permeabilidad de la capa de aleurona de la pared celular, sitio dónde se almacena el fitato. En el presente estudio es posible que las enzimas XAP, mejoraran la permeabilidad de la capa de aleurona, incrementando el acceso de la fitasa endógenas y exógenas a la molécula de fitato, mejorando así la digestibilidad de fósforo.

El efecto benéfico de las fitasas en dietas maíz-pasta de soya para gallinas como el porcentaje de postura, masa de huevo, conversión alimenticia, grosor de cascarón y dureza del cascarón del huevo son sustentadas en varias investigaciones tales como Liu *et al.* (2007) quienes encontraron que la adición de 300 FTU permitió la reducción de 0.13% de fósforo disponible y 0.12 de calcio manteniendo los parámetros productivos a excepción de la conversión alimenticia, datos que concuerdan con el presente estudio.

Efecto de enzimas sobre almidón y PNA

El maíz es la principal fuente de energía utilizada en dietas para aves debido a su alto contenido de energía (Cufadar *et al.*, 2010; Gatrell *et al.*, 2014) y la pasta de soya como fuente de proteína (Laudadio and Tufarelli, 2011). Algunos autores (Mathlouthi *et al.*, 2003; Yegani and Korver, 2008; Kiarie *et al.*, 2014; Jahanian and Golshadi, 2015) señalan que la presencia de polisacáridos no amiláceos en maíz y pasta de soya, pueden afectar de forma negativa la utilización de nutrientes y el desempeño de las aves. Sin embargo; otras investigaciones señalan que la suplementación con enzimas exógenas mejora la salud intestinal, aumenta la producción de huevos, la digestibilidad de nutrientes y mejora la conversión alimenticia (Wyatt y Goodman 1993; Lázaro *et al.*, 2003b; Swiatkiewicz *et al.*, 2016).

Las enzimas carbohidrasas y fitasas ayudan a degradar factores antinutricionales como los PNA o fitatos, presentes en una gran variedad de ingredientes. Los factores antinutricionales también pueden interferir con la digestión normal, resultando en una menor producción de carne o de huevo, menor digestibilidad del alimento que pueden desencadenar trastornos digestivos al incrementar la producción de moco en el lumen intestinal.

La adición de la combinación de enzimas xilanasas, proteasas y amilasas, mejoran la digestibilidad de la energía y proteína comparada a las dietas sin la inclusión de estas (Barbosa *et al.*, 2008), lo que se traduce en un menor consumo de energía por parte de las aves para realizar la digestión, dejando libre la EM para otros procesos productivos. Los resultados obtenidos de consumo de alimento en el presente estudio corroboran los datos encontrados por Lee *et al.* (2014) y Zhu *et al.* (2014), quienes adicionaron xilanasas, celulasas, pectinasas, proteasas, fitasas y amilasas en dietas con reducción de 90 kcal/kg de EM, dónde encontraron que el consumo de alimento fue similar entre las dietas suplementadas o no con las enzimas.

Las xilanasas, amilasas y proteasas actúan sinérgicamente descomponiendo la matriz de la pared celular, especialmente los componentes insolubles, facilitando la liberación de nutrientes encapsulados entre las paredes celulares, quedando disponibles para que las enzimas digestivas y fitasas exógenas actúen sobre estos (Olukosi *et al.*, 2007). Esta información demuestra el por qué de la mejora de algunos parámetros productivos como porcentaje de postura, peso de huevo, conversión alimenticia, en los tratamientos con fitasa y XAP, en relación con los tratamientos sin enzimas y únicamente con fitasas.

En el presente estudio, los resultados de unidades Haugh, color de yema y grosor de cascarón, no se obtuvieron efectos benéficos al incluir las enzimas carbohidrasas, proteasas y fitasas, estos resultados fueron similares a los obtenidos en una investigación realizada por Lima *et al.* (2019) quienes evaluaron la inclusión de enzimas xilanasas, glucanasas, y fitasas en dietas reducidas en 65 kcal/kg y 3.6

g/kg de PC, encontrando que la adición de enzimas no tuvo influencia sobre dichas evaluaciones.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye lo siguiente:

En dietas maíz-pasta de soya con 17 o 15% de proteína con la adición de fitasas (600 FTU) para gallinas de postura Bovans White de 62 a 80 semanas de edad, empleando su matriz en la formulación y la suplementación *on top* de xilanasas (2000 U/kg) amilasas (200 U/kg) y proteasas (4000 U/kg), mejoraron el porcentaje de postura, el índice de conversión alimenticia y resistencia del cascarón, con la reducción del porcentaje de inclusión de ingredientes en las dietas tales como pasta de soya, ortofosfato, aceite y sal.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acamovic, T. (2001). Commercial application of enzyme technology for poultry production. *World's Poult. Sci. J.* 57: 225-242.

Adeola, O., & Cowieson, A. J. (2011). Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of animal science*, 89(10), 3189-3218.

Ávila, G, E. El uso de la fitasa en la alimentación de las aves. *Memorias del Seminario Internacional Roche; 2001 junio 29. Guadalajara (Jalisco) México.* Pp. 33-42

AOAC, Method 2002: Phytase activity in feed: colorimetric enzymatic method, *Official Methods of Analysis of AOAC International.* 17 ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Barletta, A. (2010). Introduction: Current Market and Expected Developments. M. R. Bedford & G. G. Partridge. (Eds). *Enzymes in Farm Animal Nutrition.* (pp. 1-12).

Bedford, M. R., y Partridge, G. G. (Eds.) (2001). *Enzymes in Farm Animal. Nutrition.* Wallingford, Oxon, GBR: CABI. ProQuest ebrary. Pag 61- 84.

Bedford, M. R., and A. J. Morgan. (1996). The use of enzymes in poultry diets. *World's Poult. Sci. J.* 52:61–68.

Bedford, Michael & Partridge, G.G. (2010). *Enzymes in farm animal nutrition.* Ed. MPG Books Group. 2a edition.

Boling S. D., Douglas M. W., Shirley R. B., Parsons C. M., Koelkebeck K. W. (2000). The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. *Poult. Sci.* 79:535–538.

Boyle, J. (2005). *Lehninger principles of biochemistry (4th ed.):* Nelson, D., and Cox, M. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 33, 74–75.

Cárabez, A., Chavarría, A. (2013). *Bioquímica de Laguna.* En Riveros, H., Martínez, F. (Eds.), *Química de los carbohidratos* (pp.201-214)

Casey, A., & Walsh, G. (2004). Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. *Journal of Biotechnology*, 110(3), 313-322.

Choct, M. (2006). Enzymes for the feed industry: past, present and future. *World's Poultry Science Journal*, 62(1), 5–15.

Chu, R.T. Guo, T.W. Lin, C.C. Chou, H.L. Shr, H.L. Lai, T.Y. Tang, K.J. Cheng, B.L. Selinger, A.H.J. Wang. (2004). Structures of Selenom on as ruminantiumphytase in complex with per sulfated phytate: DSP phytase fold and mechanism for sequential substrate hydrolysis. *Structure*, 12 (11) pp. 2015-2024

- CONAFAB. La Industria Alimentaria Animal de México. (2018).
- Cooper, G., & Hausman, R. (2007). Enzyme Specificity and Regulation In The Cell: A Molecular Approach (pp. 460–499). Washington, DC: ASM Press.
- Covadonga, M., Fonseca, M., Quintana, J, A. (2013). El huevo: mitos, realidades y beneficios. Instituto Nacional Avícola. (pp.19-26)
- Cowieson A., Hruby M., Isaksen M. F. (2005). The effect of conditioning temperature and exogenous xylanase addition on the viscosity of wheat-based diets and the performance of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 46:717–724
- Cowieson A. J. (2010). Strategic selection of exogenous enzymes for corn/soy-based poultry diets. *Jpn. Poult. Sci.* 47:1–7
- Cufadar, A.Ö. Yildiz, O. Olgun (2010). Effects of xylanase enzyme supplementation to corn/wheat-based diets on performance and egg quality in laying hens *Can. J. Anim. Sci.*, 90, pp. 207-212.
- Dahiya, S. (2016). Industrial application of phytases. *Int. J. Appl. Res.*, 2 (2) pp. 95-98
- Dale, N. (2006). Enzimas para la Avicultura: Mitos y Realidades. In U. N. de C. Pulido, Martha & U. de G. Villegas, Pedro (Eds.), XI SEMINARIO INTERNACIONAL DE PATOLOGÍA Y PRODUCCIÓN AVIAR PATOLOGÍA Y PRODUCCIÓN AVIAR. Athens, Georgia.
- Dusterhöft, M., Verbruggen, M.A., Gruppen, H. and Kormelink, F.J.M. (1993) Cooperative and synergistic action of specific enzymes enhances the degradation of non-starch polysaccharides in animal feeds. In: Wenk, C. and Boessinger, M. (eds)
- Feighner SD, Dashkevich MP. (1988). Effect of dietary carbohydrates on bacterial cholytaurine hydrolase in poultry intestinal homogenates. *Appl Environ Microbiol.* Feb;54(2):337–342.
- Fernández SR, S Chárraga, E Ávila-Gonzalez, 2019 Evaluation of a new generation phytase on phytate phosphorus release for egg production and tibia strength in hens fed a corn-soybean meal diet, *Poultry Science*, Volume 98, Issue 5, May 2019, Pages 2087–2093.
- Frølich, W. 1990. Chelating properties of fiber and phytate. Pages 83–93 in *New Developments in Dietary Fiber: Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects*. I. Furda and C. J. Brine, ed. Premium Press, New York, NY.
- Gatrell, K. Lum, J. Kim, X.G. Lei. (2014), Non ruminant Nutrition Symposium: Potential of defatted microalgae from the biofuel industry as an ingredient to replace corn and soybean meal in swine and poultry diets *J. Anim. Sci.*, 92 pp. 1306-1314

Hahn-Didde, D. y Purdum, S. (2014). The effects of an enzyme complex in moderate and low nutrient-dense diets with dried distillers grains with solubles in laying hens. *J. Appl. Poult. Res.* 23:23–33

Huisman. (1991). Antinutritional factors in poultry feeds and their management. En *Preliminary Proceedings of the 8th European Symposium on Poultry Nutrition*, pp. 35-52.

Jahanian, M. Golshadi. (2015). Effect of dietary supplementation of butyric acid glycerides on performance, immunological responses, ileal microflora, and nutrient digestibility in laying hens fed different basal diets. *Livest. Sci.*, 178 pp. 228-236.

Keshavarz, K. & Nakajima, S. 1993. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. *Poult Sci.* 72:144

Klivanov, A.M. (1982). Stabilization of enzyme against thermal inactivation. *Adv. Appl. Microbiol.* 29:1

Kraut, J., (1977) *Serine Proteases: structure and mechanism of catalysis*. University of California, San Diego.

Laguna J. (2002). *Bioquímica De Laguna*, 7ª edición, Manual Moderno, pp.201-214

Laudadio, V. Tufarelli. (2011). Influence of substituting dietary soybean meal for dehulled-micronized lupin (*Lupinus albus* cv Multitalia) on early phase laying hens production and egg quality. *Livest. Sci.*, 140 pp. 184-188

Lee, K. W., Y. I. Choi, and E. J. Moon. (2014). Evaluation of dietary multiple enzyme preparation (natuzyme) in laying hens. *Asian-Austral. J. Anim. Sci.* 27:1749–1754

Lei, C. Stahl. (2001). Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 57 (4) pp. 474-481

Lei, J.D. Weaver, E. Mullaney, A.H. Ullah, M.J. Azain. (2013). Phytase, a new life for an “old” enzyme. *Rev. Anim. Biosci.*, 1 pp. 283-309

Lima, M.R. , Costa, F.P. , Vieira, D.V. , Cardoso, A.S. , Lima, G.S. , Cavalcante, D.T. , Ceccantini, L.M. , Yavuz, B.B. , Bezerra, R.M. , y Kaneko, I.N. (2019). Xylanase, Glucanase, and Phytase in the Diet of Light Laying Hens. *Poult. Res.* 0:1–6

Liu, F. D., Li, J., Sands, S., Zhang, A. J.,Zheng. (2007). Efficacy of Phytases on Egg Production and Nutrient Digestibility in Layers Fed Reduced Phosphorus Diets. *Poultry Science*. Volume 86, Issue 11, 1 November 2007, Pages 2337-2342

Maenz, D., Classen L.H. (1998). Phytase Activity in the Small Intestinal Brush Border Membrane of the Chicken. *Poultry Science* 77:557–563

- Mandels, M. (1976). Measurement of saccharifying cellulose. *Biotech. Bioeng. Symp. Proceedings*. 6; 21. USA.
- Mathlouthi, M.A. Mohamed, M. Larbier (2003), Effect of enzyme preparation containing xylanase and β -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley-or maize/soybean meal-based diets *Br. Poult. Sci.*, 44 pp. 60-66.
- McCollum EV, Hart EB. (1980). On the occurrence of a phytin-splitting enzyme in animal tissue. *J Biol Chem.*; 4:497–500
- Moran E. T. (1985). Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *J. Nutr.* 115:665–674.
- Mosenthin R, Broz J (2010). Mineral digestibility and environmental issues. Efficacy and interactions of phytases. *Livestock Science* 134, 258-260
- Mullaney, A.H. Ullah. (2003). The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 312 (1) pp. 179-184
- Nagai Y, Funahashi S (1962) Phytase (myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase) from wheat bran. *Agric Biol Chem* 26:794– 803
- Naves, P.B. Rodrigues, C. Meneghetti, V.M.P. Bernardino, D.H. Oliveira, M.M. Saldanha, L.D. Teixeira, L.M. Santos. Efficiency of microbial phytases in diets formulated with different calcium: phosphorus ratios supplied to broilers from 35 to 42 days of age. *J. Appl. Anim. Res.*, 44 (2016), pp. 446-453
- Olukosi OA, Cowieson AJ, Adeola O *Poult Sci.* 2007 Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. *Jan*; 86(1):77-86
- Parkkonen, T., A. Tervila-Wiko, M. Hopeakoski-Nurminen, A. Morgan, K. Poutanen, and K. Autio. 1997. Changes in wheat microstructure following in vitro digestion. *Acta Agric. Scand. B Soil Plant Sci.* 47:43–47.
- Paloheimo, M., Piironen, J., Vehmaanpera, J. (2010). Xylanases and Cellulases as Feed Aditives. In Bedford, M., Partridge, G. (Eds). *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. (pp. 12-54).
- Pettersson, Dan & Åman, Per. (1989). Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat *Br J Nutr. The British journal of nutrition.* 62. 139-49.
- Pointillart, A. (1994). Fitatos, fitasas: su importancia en la alimentación de los monogástricos. *INRA Prod. Anim.* 7(1), 29-39.
- Ponnuvel, K. Narayanankutty, A. Jalaludeen, P. Anitha. (2014). Economics of phytase enzyme supplementation in low energy-protein layer chicken diet. *Int. J. Livest. Prod.*, 5), pp. 113-116.

Prasad, C. S., Mandal, A. B., Gowda, N. K. S., Sharma, K., Pattanaik, A. K., Tyagi, P. K., & Elangovan, A. V. (2015). Enhancing phosphorus utilization for better animal production and environment sustainability. *Current Science*, 108(7), 1315.

Rapoport S, Leva E, Guest GM (1941) Phytase in plasma and erythrocytes of vertebrates. *J Biol Chem* 139:621–632

Ravindran, W.L. Bryden, E.T. Kornegay. (1995). Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. Avian Biol. Rev.*, 6), pp. 125-143

Ravindran, V. (2013). Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities 1. *The Journal of Applied Poultry Research*, Volume 22, Issue 3, Pag 628–636.

Ruiz, B. (2011). Puntos clave de las enzimas en la avicultura. Recuperado de: <http://www.wattagnet.com/articles/10236-puntos-clave-de-las-enzimas-en-la-avicultura>

Rutz, F. (2016). Enzimas en Nutrición de Aves. In Programa de Alta Gerencia en Nutrición de Aves. Santa Cruz, Bolivia.

Sanmiguel, P. A. (2011). Research and use of phytase in poultry farming. *Spei Domus*, 7(15), 47–54.

Sauveur, B. (1989) Phytic phosphorus and phytases in poultry nutrition. *INRA Prod. Anim.* 2, 343-351

Schang, M., y Azcona, J. (2003). Natural enzyme applications to optimize animal performance. In nutritional biotechnology in the feed and food industries of alltech annual meeting (pp. 163–170). Lexingtong: Alltech

Sebastian, S., Touchburn, S. y Chavez, E. (1998). Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: A review. *World's Poultry Sci. J.* 54: 27-47.

Selle, V. Ravindran. (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 135 pp. 1-41

Selle, P. H., & Ravindran, V. (2008). Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science*, 113(2), 99-122.

Selle, P. H., Cowieson, A. J., Cowieson, N. P., & Ravindran, V. (2012). Protein–phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. *Nutrition research reviews*, 25(01), 1-17.

Selle, P. H., Ravindran, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livest. Sci.*, 113 (2 Ponnuvel, K. Narayanankutty, A. Jalaludeen, P. Anitha. Economics of phytase enzyme supplementation in low energy-protein layer chicken diet. *Int. J. Livest. Prod.*, 5 (2014), pp. 113-116–3) (2008), pp. 99-122

Selle, P. H., Moss, A. F., Truong, H. H., & Yun, S. (2015). Dietary phytate and exogenous phytase: An expanding comprehension. In Arkansas Nutrition Conference 2015. Arkansas: University of Arkansas. Retrieved from <http://www.thepoultryfederation.com>

Shimada, A. (2015). *Nutrición Animal (Tercera)*. Ciudad de México: Trillas.

SIAP. 2019. *Canasta básica alimentaria*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

Swiatkiewicz, M. Swiatkiewicz, A. Arczewska-Wlosek, D. Jozefiak. (2016). Efficacy of feed enzymes in pig and poultry diets containing distillers dried grains with solubles: a review *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 100 pp. 15-26.

Um, S., y Paik, I. K. (1999). Effects of Microbial Phytase Supplementation on Egg Production, Eggshell Quality, and Mineral Retention of Laying Hens Fed Different Levels of Phosphorus. *Poultry Science* 78(1):75-9

U.N.A. (2019) *Compendio de indicadores económicos del sector avícola 2019*. Disponible en: <https://www.una.org.mx/industria/>

Van Etten, R. Davidson, P.E. Stevis, H. MacArthur, D.L. Moore. (1991). Covalent structure, disulfide bonding, and identification of reactive surface and active site residues of human prostatic acid phosphatase. *J. Biol. Chem.*, 266 pp. 2313-2319

Van der Klis JD, HA Versteegh, PC Simons, AK Kies,(1997). The efficacy of phytase in corn-soybean meal-based diets for laying hens, *Poultry Science*, Volume 76, Issue 11, November 1997, Pages 1535–1542

Vitti, D. M., & Kebreab, E. (Eds.). (2010). *Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals*. CABI.

Wang, M. Q. ; Xu, Z. R. ; Sun, J. Y. ; Kim, B. G., 2008. Effects of enzyme supplementation on growth, intestinal content viscosity, and digestive enzyme activities in growing pigs fed rough rice-based diet. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 21 (2): 270-276

Wolfgang, A. (2004). *Enzymes in Industry - Production and Applications (2nd ed.)*, Wiley-CH Verlag GmbH & Co. LGA, Weinheim, Germany.

Wyss, M.R.; Brugger, R.; Kronenberg, A.; Remy, R.; Fimbel, R.; Oesterhelt, G.; Lehman, M. y va Loon, A.P.G. (1999). Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbio.* 65: 367-373

Yegani, D.R. Korver. (2008). Factors affecting intestinal health in poultry. *Poult. Sci.*, 87 pp. 2052-2063.

Yi, Z., E. T. Kornegay, and D. M. Denbow. (1996). Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poults fed corn-soybean meal diets. *Poult. Sci.* 75:979–990.

Zhu, H. L., L. L. Hu, and Y. Q. Ho. (2014). The effects of enzyme supplementation on performance and digestive parameters of broilers fed corn-soybean diets. *Poult. Sci.* 93:1704–1712.

Zyla, M. Mika, R. Dulinski, S. Swiatkiewicz, J. Koreleski, H. Pustkowiak, J. Piironen. (2012). Effects of inositol, inositol-generating phytase B applied alone, and in combination with 6-phytase A to phosphorus-deficient diets on laying performance, eggshell quality, yolk cholesterol, and fatty acid deposition in laying hens. *Poult. Sci.*, 91 pp. 1915-1927

10. CUADROS

Cuadro 1. Composición nutricional de las dietas experimentales para gallina de postura Bovans White.

Ingredientes	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Maíz Amarillo	593.265	654.486	654.486	648.836	711.733	711.733
Pasta de Soya (48%)	246.392	218.782	218.782	209.583	163.90	163.9
Calcio Fino	50.165	50.723	50.723	50.226	50.74	50.74
Calcio Grueso	50.165	50.723	50.723	50.226	50.74	50.74
Aceite de soya	32.107	7.308	7.308	9.986	0.00	0.00
Fosfato 18/20	16.12	6.342	6.342	16.302	6.823	6.823
Cloruro de Sodio	4.065	3.578	3.578	4.088	3.578	3.578
Premezcla Vitamínica ¹	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
DL-Metionina 99%	1.471	1.434	1.434	2.313	2.419	2.419
Freetox	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Pigmentante	1.800	1.800	1.800	1.800	1.800	1.800
Lisina HCl	0.00	0.315	0.315	1.457	2.62	2.62
L-Treonina	0.00	0.00	0.00	0.733	1.134	1.134
Bacitracina	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
Antioxidante	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150	0.150
Fitasa	0.00	0.060	0.060	0.00	0.060	0.060
Complejo XAP	0.00	0.00	0.075	0.00	0.00	0.075
Análisis Calculado						
Energía Met (kcal/kg)	2850	2850	2850	2700	2700	2700
Proteína cruda (%)	17	17	17	15	15	15
Fósforo no fítico (%)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Calcio Total (%)	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2
Lisina (%)	0.89	0.89	0.89	0.90	0.90	0.90
Metionina (%)	0.42	0.42	0.42	0.46	0.46	0.46
Met + Cis (%)	0.72	0.72	0.72	0.70	0.70	0.70
Treonina (%)	0.66	0.66	0.66	0.63	0.63	0.63
Ácido linoleico (%)	1.69	1.69	1.69	1.34	1.34	1.34
Colina (g/kg)	0.89	0.89	0.89	0.76	0.76	0.76
Sodio (%)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloruro (%)	0.26	0.26	0.26	0.30	0.30	0.30

1= *Vitamina A 10,000,000 UI; Vitamina D3 2,500,000 UI; Vitamina E 6,000 UI; Vitamina K 2.5g; Tiamina 1.6g; Riboflavina 5 g; Cianocobalamina 0.10g, Ácido Fólico 0.50 g; Piridoxina 1.5 g; Pantotenato de calcio 10 g; Niacina 30g; Cloruro de colina 60% 200 g, Hierro 80g; Manganeso 60g; Cobre 10g; Yodo 0.3g; Cinc 50g; Selenio 0.30g; Antioxidante 125g; Vehículo C.b.p 1.000.00g

Cuadro 2. Resultados promedio de los efectos principales de parámetros productivos en ocho semanas de experimentación en gallinas Bovans White.

Factor	Porcentaje de Postura (%)	Peso promedio del huevo (g)	Masa de huevo ave/día (g)	Consumo ave/día (g)	Índice de conversión alimenticia (kg/kg)
Dieta					
CP	89.5	61.9a	55.0	102.8	1.866a
CN	87.5	60.9b	53.0	102.5	1.948b
Enzimas					
Sin enzimas	87.7a	61.8	54.2	102.5	1.931b
Con fitasas	87.2a	61.6	53.3	103.8	1.952b
Con fitasas + XAP	90.5b	61.7	55.4	102.2	1.839a
Fuente de variación		Probabilidad			
Dieta	0.081	0.002	0.249	0.649	0.009
Enzimas	0.042	0.856	0.287	0.140	0.008
Dieta*Enzimas	0.088	0.979	0.174	0.170	0.139

a, b. Letras opuestas indican diferencia estadística $P \leq 0.05$.

Cuadro 3. Datos promedio de los efectos principales de evaluación de la calidad del huevo en gallinas Bovans White.

Factor	Unidades Haugh	Color de yema (DSM)	Grosor de cascarón (mm)	Resistencia del cascarón (kg/cm²)
Dieta				
CP	83.1	12.2	345.2	4198.8
CN	85.4	12.1	348.7	3965.0
Enzimas				
Sin enzimas	85.1	12.1	350.3	3761.4a
Con fitasas	85.5	12.3	344.9	4256.0b
Con fitasas + XAP	82.1	12.0	345.7	4228.3b
Fuente de variación		Probabilidad		
Dieta	0.347	0.632	0.545	0.147
Enzimas	0.466	0.744	0.712	0.021
Dieta*Enzimas	0.288	0.112	0.881	0.117

a, b. Letras opuestas indican diferencia estadística $P \leq 0.05$.

Cuadro 4. Resultados promedio de los efectos principales de los porcentajes de huevo roto, en fáfara, sucio y chico en gallinas Bovans White.

Factor	Huevo roto (%)	Huevo en Fáfara (%)	Huevo sucio (%)	Huevo chico (%)
Dieta				
CP	1.6	0.3	2.1	0.11a
CN	1.1	0.2	2.1	0.44b
Enzimas				
Sin enzimas	0.9	0.1	2.0	0.16a
Con fitasas	1.3	0.4	2.1	0.41a
Con fitasas + XAP	1.8	0.3	2.2	0.25a
Fuente de variación		Probabilidad		
Dieta	0.124	0.266	0.568	0.029
Enzimas	0.171	0.197	0.38	0.369
Dieta*Enzimas	0.470	1.000	0.719	0.647

a, b. Letras opuestas indican diferencia estadística $P \leq 0.05$.

Cuadro 5. Especificaciones de la liberación de nutrientes de las matrices de fitasa (Axta Phy 10000 TPT) y XAP (Axta XAP 101 TPT).

Axta XAP ®101 TPT Matrix			Axta Phy ®10000 TPT Matrix		
Inclusión	g/t	75	Inclusión	FTU/Kg	600
	%	0.0075		g/Ton	60
Xilanasas	U/kg	1500	Fósforo Total	%	3100
Amilasa	U/kg	150	Fósforo Dis	%	2945
Proteasa	U/kg	3000	Calcio	%	2653
Energía Metabolizable	kcal/kg	1077246	Energía Metabolizable	kcal/kg	1249471
Proteína cruda	%	7666.5	Proteína cruda	%	13535
Lisina Dig	%	316.1	Lisina Dig	%	610
Metionina Dig	%	144.9	Metionina Dig	%	191
Met + Cis Dig	%	344.7	Cisteína Dig	%	429
Treonina Dig	%	391.8	Met + Cis Dig	%	620
Triptofano Dig	%	108.5	Treonina Dig	%	531
Arginina Dig	%	411.6	Isoleucina Dig	%	583
Glicina+ Serina Dig	%	647.6	Triptofano Dig	%	83
Valina Dig	%	479.1	Valina Dig	%	694
Isoleucina Dig	%	385.6	Arginina Dig	%	479
Leucina Dig	%	1241.1	Sodio	%	333
Histidina Dig	%	273.6			
Fenilalanina Dig	%	263.4			
Fen + Tirosina Dig	%	831.3			