



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



[Reconocimiento-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra, incluso con fines comerciales, siempre y cuando den crédito y licencia a las nuevas creaciones bajo los mismos términos. Esta licencia suele ser comparada con las licencias copyleft de software libre y de código abierto. Todas las nuevas obras basadas en la suya portarán la misma licencia, así que cualesquiera obras derivadas permitirán también uso comercial.

<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>



CONSTANCIA DE REVISIÓN

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud a la Tesis cuyo título es:

“Efecto de la enzima fitasa reformulada en la dieta sobre la respuesta productiva, económica y calidad de huevo en gallinas de postura”

presentado por:

Donayre Casas Augusto Martin

Estudiante del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**. El resultado obtenido es 11% por el cual se otorga el calificativo de: **APROBADO**, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones: Ninguna

Ica, 14 de febrero del 2023

.....
MARÍA EMILIA DÁVALOS ALMEYDA
DIRECTOR DE UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACION
Facultad de medicina veterinaria y zootecnia**



**“Efecto de la enzima *fitasa* reformulada en la dieta sobre la respuesta productiva,
económica y calidad de huevo en gallinas de postura”**

Línea de investigación de la Universidad:

Salud pública y conservación del medio ambiente

Línea de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia:

Producción Animal

Autor

Donayre Casas Augusto Martin

Asesor:

M.V German Medina Giribaldi

Chincha

Ica, Perú

2023

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a mis padres: Carlos y Rosario, quienes con mucho esfuerzo me dieron las condiciones y apoyo para ser el profesional que soy hoy en día. Se lo dedico también a mis abuelos maternos y paternos que en mis cinco años de estudios universitarios estuvieron a mi lado dándome apoyo moral y motivación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los miembros del grupo IDI por su apoyo académico en la realización de mi proyecto de tesis, a mi madre Rosario y mi Padre Carlos, que estuvieron conmigo en mi etapa universitaria dándome apoyo moral y financiero, sin ellos llegar hasta acá no hubiera sido posible. Finalmente, mi profundo y fraterno agradecimiento a mis docentes de pregrado, quienes forjaron en mí, conocimiento y habilidades para formar al profesional que soy ahora.

INDICE DE CONTENIDOS

	Títulos y subtítulos	Pág.
	DEDICATORIA	III
	AGRADECIMIENTO	IV
	INDICE GENERAL	V
	INDICE DE CUADROS	VI
	INDICE DE ANEXOS	VII
	RESUMEN	8
	ABSTRACT	9
I	INTRODUCCION	10
II	ESTRATEGIO METODOLOGICA	25
	2.1 Tipo de investigación	25
	2.2 Técnica e instrumentación	26
	2.3 Lugar y fecha	26
	2.4 Material y equipo	27
	2.5 Metodología de la investigación	27
	2.6 Programa sanitario y de manejo	28
	2.7 Tratamientos	28
	2.8 Diseño experimental	28
	2.9 Análisis estadístico	29
III	RESULTADOS	31
IV	DISCUSION	34
V	CONCLUSIONES	40

VI	RECOMENDACIONES	41
VII	BIBLIOGRAFIAS	42
VIII	ANEXOS	51

INDICE DE CUADROS

1.	TABLA 1. Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre valores de unidad Haugh, color de yema e índice de yema de gallinas de postura.	31
2.	TABLA 2. Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el peso y masa de huevo de gallinas de postura.	31
3.	TABLA 3. Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre valores de unidad Haugh, color de yema e índice de yema de gallinas de postura.	32
4.	TABLA 4. Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el porcentaje de cáscara y color de cáscara de huevo de gallinas de postura.	32
5.	TABLA 5. : Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el porcentaje de ceniza de tibia de gallinas y porcentaje de ceniza de cáscara de huevo de gallinas de postura.....	33
6.	TABLA 6. Efecto de una enzima <i>fitasa</i> reformulada en la dieta sobre el costo de alimento (S/Kg de alimento), margen sobre costo de alimentación (S/Kg de masa de huevo, MSCA) y retribución económica (%) en gallinas.	34
7.	TABLA 7 Datos obtenidos del análisis de cascara.	37
8.	TABLA 8 Datos obtenidos de análisis de color de yema.....	37
9.	TABLA 9 Datos obtenidos de consumo alimenticio.....	38
10.	TABLA 10 Datos obtenidos de conversión alimenticia.....	38
11.	TABLA 11 Datos obtenidos de índice de yema.....	39

12. TABLA 13 Datos obtenidos de masa de huevo.....	39
13. TABLA 14 Datos obtenidos de peso de huevo.....	40
14. TABLA 15 Datos obtenidos peso vivo inicial.....	40
15. TABLA 16 Datos obtenidos de producción de huevo.....	41
16. TABLA 17 Datos obtenidos de unidad de <i>Haugh</i>	42

INDICE DE ANEXOS

N°		Pág.
01	Formula de la diesta utilizada	51
02	Resultados de análisis estadísticos	52
03	Fotos del desarrollo del experimento	57

RESUMEN

INTRODUCCION: Incluir una fitasa en la dieta se realiza bajo dos técnicas, la primera por suplementación sin considerar aportes de liberación de nutrientes y la segunda es por reformulación donde se considera la matriz nutricional de la enzima fitasa. Esta última técnica es la más adecuada, ya que se valoriza la liberación de fosforo, calcio, aminoácidos y energía,

OBJETIVO: Determinar efecto de la enzima *fitasa* reformulada en la dieta sobre la respuesta productiva, y calidad de huevo en gallinas de postura. **METODOS:** Se formulo una dieta convencional, dieta con fosforo reducido, una dieta con enzima fitasa suplementada y una dieta reformulada con la matriz nutricional de la enzima fitasa. La dosis a utilizar fueron 100 gramos por tonelada de alimento. Las aves experimentales serán distribuidas siguiendo el protocolo de un Diseño de Bloques Completamente al Azar. Cada uno de los tratamientos tendrá 4 repeticiones, dando un total de 16 unidades experimentales (8 gallinas por unidad experimental). Se evaluaron variables como producción de huevo, unidad de haugh, ceniza de cascara, ceniza de huevo, consumo, conversión, índice de cascara, índice de yema, peso final, color de yema, color de cascara y peso de huevo. **RESULTADOS:** El resultado de la respuesta productiva, calidad de huevo, ceniza de tibia y de cascara según los análisis estadísticos, nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las variables de estudio. **CONCLUSION:** La inclusión de una enzima fitasa reformulada en la dieta no tuvo efecto significativo sobre la respuesta productiva de gallinas de postura.

Palabras claves: fitasa, gallinas de postura, huevo, producción

ABSTRACT

INTRODUCTION: Including a phytase in the diet is carried out under two techniques, the first by supplementation without considering nutrient release contributions and the second is by reformulation where the nutritional matrix of the phytase enzyme is considered. This last technique is the most appropriate, since the release of phosphorus, calcium, amino acids and energy is valued, **OBJECTIVE:** To determine the effect of the reformulated phytase enzyme in the diet on the productive response and egg quality in laying hens. **METHODS:** A conventional diet, a reduced phosphorus diet, a supplemented phytase enzyme diet, and a reformulated diet with the phytase enzyme nutritional matrix will be formulated. The dose to be used was 100 grams per ton of food. The experimental birds will be distributed following the protocol of a Completely Random Block Design. Each of the treatments will have 4 repetitions, giving a total of 16 experimental units (8 hens per experimental unit). Variables such as egg production, haugh unit, shell ash, egg ash, consumption, conversion, shell index, yolk index, final weight, yolk color, shell color and egg weight are evaluated. **RESULTS:** The result of the productive response, egg quality, tibia and shell ash according to the statistical analysis, indicates that no significant difference ($p \geq 0.05$) was found in any of the study variables.

CONCLUSION: The inclusion of a reformulated phytase enzyme in the diet did not have a significant effect on the productive response of laying hens.

Keywords: phytase, laying hens, egg, production

I. INTRODUCCIÓN

En el último semestre del 2018 y comienzo del 2019, la industria de producción de huevos a nivel regional y nacional, experimento una sobre oferta por sobreproducción y consecuentemente una baja del precio de venta del huevo por debajo del costo de producción.

En los últimos meses del año 2019 se presentó unos escasos de torta de soya, que es la fuente principal de aminoácidos en la dieta de las aves, lo que conllevó a elevar el costo del alimento, mientras que el precio de venta de huevo se mantenía bajo.

El costo de la alimentación representa entre 60 a 75% del costo de producción de huevo. Los principales rubros de costos en orden de prioridad es la energía, aminoácidos y fósforo. En esta línea, se deben hacer ajustes necesarios para mejorar los costos de la dieta, costo de alimentación y manteniendo la respuesta productiva para mejorar la rentabilidad y viabilidad de la industria. Información preliminar de la práctica privada nos indica, por un lado, que aún no se está utilizando adecuadamente las enzimas exógenas como las fitasas en las fórmulas de las dietas, y en otros casos simplemente no se utiliza.

Incluir una fitasa en la dieta se realiza bajo dos técnicas, la primera por suplementación sin considerar aportes de liberación de nutrientes y la segunda es por reformulación donde se considera la matriz nutricional de la enzima fitasa. Esta última técnica es la más adecuada, ya que se valoriza la liberación de fósforo, calcio, aminoácidos y energía, por lo que, el costo de la dieta se reduce.

En esa línea, este experimento tiene como objetivo evaluar el efecto de la inclusión de una enzima fitasa por reformulación en la dieta sobre la respuesta productiva y económica de gallinas de postura comercial.

De acuerdo con Liu *et al.* (1), los ingredientes vegetales tienen factores y/o sustancias antinutricionales que no son digeridos por las enzimas digestivas de las aves, y el uso de enzimas específicas en las dietas permite una reducción o incluso la eliminación de sustancias que potencialmente pueden contaminar el medio ambiente, como fósforo y nitrógeno, además de reducir el costo de alimentación.

El fitato (IP₆) es la principal forma de almacenamiento de fósforo (P) en las plantas, que representa del 60 al 70% del P de la planta. Sin embargo, el P fitato es poco digerible en animales monogástricos, y la molécula de fitato tiene la capacidad de quelarse fuertemente con cationes para formar minerales insolubles y otros complejos con fitato (2).

El fitato se puede unir a otros nutrientes y enzimas digestivas, lo que conduce a una menor digestibilidad de los nutrientes y a una mayor excreción de nutrientes en las heces (3), por lo tanto es considerado como un anti nutriente. Sin embargo, incluso si se agrega fitasa a las aves de corral, una porción sustancial de fitato permanece indigerible (4).

La liberación de P fitato por fitasa está lejos de ser completa y, en base a varios estudios, se promedió solo el 20% de P presente en los fitatos en las dietas de aves de corral (es decir, 0.056 frente a 0.29%). Aunque generalmente se acepta que el contenido de P disponible de las dietas de pollos broilers se puede reducir en 0,1 puntos porcentuales o más con la suplementación con fitasa, los valores de digestibilidad del P fitato no justifican tal reducción (5).

Los granjeros tienden a usar alimentos con un nivel de P mayor que el recomendado (6).

De lo mencionado se deduce que en las dietas convencionales maíz – soya para las gallinas de postura los fitatos ejercen un efecto antinutricional que es necesario reducir.

Sin embargo, por otro lado, dado que la industria avícola local y nacional ha experimentado diversos desafíos que conllevo a un aumento de los costos de la dieta, costos de alimentación y reducción del precio de venta de huevos, crea un escenario para evaluar algunas estrategias que contribuya a mejorar los costos de la dieta y alimentación. En esta línea, algunos avicultores utilizan la enzima fitasa como suplemento (*on top*) sin considerar su matriz nutricional, lo que se considera que no es la mejor técnica a utilizar, por lo que la estrategia de incluir enzimas exógenas

tipo fitasa bajo la técnica de reformulación (matriz nutricional) podría ser una alternativa a lo mencionado.

La enzima fitasa es de importancia en la nutrición de las gallinas de postura, sin embargo las aves no pueden sintetizar algunas enzimas o producirlas en cantidades insuficientes, lo que requiere suplementación para la digestión de los muchos componentes químicos que se encuentran en los alimentos de origen vegetal o algunos procesos antinutricionales, por ejemplo, fitato (7).

El uso de enzimas en las dietas de aves puede contribuir a una mayor liberación de fósforo a partir de la hidrólisis del fitato, eliminación del efecto encapsulante de nutrientes de las paredes celulares y por lo tanto disponibilidad mejorada de energía y aminoácidos, solubilización de polisacáridos no amiláceos (PNA) de la pared celular para una fermentación más efectiva del intestino posterior y una mejor utilización general de la energía, hidrólisis de ciertos tipos de enlaces carbohidrato-proteína y por lo tanto disponibilidad mejorada de aminoácidos, y la eliminación de las propiedades antinutritivas de ciertos PNA dietéticos por su hidrólisis enzimática a componentes de tipo prebiótico (8).

Esta estrategia permite la reducción de la suplementación de P inorgánico en la dieta, disminuyendo la excreción de P y, por lo tanto, mitigando la contaminación ambiental.

Las fitasas se utilizan en las dietas de gallinas de postura para aumentar la disponibilidad de fósforo principalmente. En este proceso, también se liberan otros nutrientes como los

Aminoácidos, minerales y energía, por lo que es necesario reevaluar si estos aportes están en la línea de recomendación de la matriz nutricional de las fitasas comerciales.

La mayor parte de la literatura publicada respalda que la suplementación dietética de fitasa puede mejorar el rendimiento de las aves de corral, la eficiencia alimenticia y el contenido de minerales. El alimento para aves que contiene cantidades de calcio puede tener un gran impacto en la eficacia de la fitasa y la utilización de P fitato. La suplementación con fitasa para la dieta avícola es reconocida como el medio más efectivo para utilizar y liberar minerales ligados a fitato. Además, la disminución de la excreción de P también reducirá las preocupaciones ambientales. Sin embargo, los resultados son en gran medida contradictorios y aún se necesita

dilucidar la dosis exacta, la duración, las especies de aves, la naturaleza microbiana de la fitasa y algunos otros factores importantes. Además, también se necesitan grandes experimentos comerciales para determinar el impacto beneficioso de la fitasa en la producción avícola (9).

En base a lo mencionado se justifica la presente evaluación ya que contribuirá con información para mejorar los costos de las dietas y de alimentación en la producción de huevos comerciales.

1.1 Antecedentes

En un experimento en el que las dietas en gallinas de postura se complementaron con fitasa, considerando la matriz de nutrientes de la enzima, Silversides y Hruby (10) observaron disminuciones del orden de 34 y 47 kcal/kg de energía metabolizable aparente, 0.18 y 0.21% de proteína cruda, y 0.12 y 0.15% de P disponible con el uso de 300 y 600 FTU/Kg fitasa, respectivamente. Los investigadores concluyeron que la fitasa proporciona beneficios adicionales a la disponibilidad de otros nutrientes además del fósforo, principalmente proteínas y energía.

1.2 Estudios

Habibollahi *et al.* (11), consideran que las fuentes de proteínas vegetales tienen una baja disponibilidad de fósforo, un ejemplo es el salvado de arroz, la importancia del requerimiento de fósforo en la nutrición de aves de corral, especialmente en las ponedoras, está aumentando. Ellos realizaron un experimento para investigar los efectos de la fitasa en las dietas que contienen diferentes niveles de salvado de arroz sobre el rendimiento de la producción, la calidad del huevo y la concentración de ácidos grasos y colesterol que afecta el valor nutricional de los huevos de gallinas ponedoras. Utilizaron un total de 120 gallinas de postura blanca Hy-line W-36 de 62 semanas de edad con dietas de maíz y soya con diferentes niveles de salvado de arroz (0, 15 y 25%) y con o sin suplementos de fitasa (250 FTU / kg) . El peso y el grosor de la cáscara de huevo fueron mayores en el grupo suplementado con fitasa. La unidad Haugh no fue significativamente diferente entre los grupos experimentales. El mayor peso de huevo y yema pertenecía a un grupo

de tratamiento suplementado con 25% de salvado de arroz. La inclusión de 25% de salvado de arroz aumentó el peso del huevo, pero disminuyó la producción de huevos de gallina; por lo tanto, la masa del huevo no mostró ningún cambio significativo.

La concentración de colesterol de los huevos en un grupo con 25% de salvado de arroz disminuyó, pero la concentración de ácidos grasos, omega-3 y omega-6 aumentó significativamente en las dietas experimentales suplementadas con salvado de arroz. Los grupos suplementados con fitasa tuvieron una disminución significativa en la excreción de P y Ca, lo que redujo las preocupaciones ambientales atribuidas a la excreción de P. En conclusión, las gallinas de postura alimentadas con 250 FTU / kg de fitasa suplementadas con 25% de salvado de arroz tuvieron un mejor rendimiento, composición del huevo y calidad de la cáscara.

Shet *et al.* (12), realizaron un estudio para evaluar los efectos de los diferentes niveles de suplementos dietéticos de fitasa en la alimentación de gallinas de postura sobre el rendimiento de la producción de huevo, la calidad de la cáscara del huevo y la expresión de genes de osteopontina (OPN) y calbindina (CALB1). Se utilizaron setenta y cinco gallinas de postura de la línea White Leghorn de 23 semanas de edad, las que se dividieron aleatoriamente en 5 grupos que consistían en una dieta de control con 0.33% de fósforo no fitico (NPP) y 4 dietas bajas en fósforo (P): 2 dietas (T1 y T2) con 0.24 % NPP + 250 FTU / kg de fitasa producida en laboratorio o fitasa comercial y otras 2 dietas (T3 y T4) con 0.16% NPP + 500 FTU / kg de fitasa producida en laboratorio o fitasa comercial con reemplazo completo de P inorgánica. Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en el rendimiento de producción de huevo y la calidad del huevo durante los primeros 2 meses de prueba. Sin embargo, en los siguientes 2 meses, se observó una caída significativa en la producción de huevos y el consumo de alimento en aves alimentadas con dietas con bajo P y 500 FTU / kg de suplementos de fitasa producida en laboratorio. El gen de osteopontina estaba regulado al alza mientras que el gen CALB1 estaba regulado a la baja en todos los grupos de tratamiento con fitasa, independientemente de la fuente de fitasa.

Los datos actuales demostraron que la suplementación de 250 FTU/kg de fitasa producida en laboratorio con un 50% menos de suplementos de NPP y la suplementación de 500 FTU / kg de

fitasa comercial incluso sin NPP en la dieta pueden mantener la producción de huevos. La regulación ascendente de OPN y la regulación descendente de CALB1 en la glándula del cascarón del huevo en todo el grupo de aves tratadas con fitasa, independientemente de la fuente de enzimas, es indicativo de los cambios en la biodisponibilidad de P en este sitio.

Fernandez *et al.* (13) desarrollaron un estudio para evaluar el efecto de varios niveles de inclusión de *Citrobacter braakii* phytase (CBP), en la liberación de de fosforo (P) de fitato. Se utilizaron 420 gallinas blancas de 50 semanas de edad, los que se asignaron al azar a 7 tratamientos con 5 réplicas de 12 gallinas cada una. El período experimental duró 12 semanas, los primeros 8 para la adaptación y los últimos 4 para la recopilación de datos. Se proporcionaron alimento y agua *ad libitum*. Los tratamientos fueron: (1) una dieta de harina de maíz y soja basal de 0.12% deficiente solo en P no fitato. Los tratamientos 2 y 3 se agregaron con aumentos constantes de 0.11% de P inorgánico, para obtener una respuesta lineal de la gallina a la adición de P. Los tratamientos 4 a 7 fueron la adición de 300; 600; 1.200; y 1,800 unidades de fitasa (FYT) / kg a la dieta basal. Las variables analizadas fueron el rendimiento productivo de la gallina (HPP) y la resistencia a la fractura de la tibia (TRF), y el contenido mineral. Los datos se analizaron como un diseño aleatorio completo (CRD). Los resultados de los tratamientos 1 a 3 se analizaron mediante un modelo de regresión para evaluar una respuesta lineal significativa ($P < 0.05$). Luego, para cada nivel de CBP agregado (tratamientos 4 a 7), la ecuación de regresión lineal se resolvió para encontrar el valor equivalente de P liberado.

En función de la salud y el bienestar de las gallinas, las variables respuesta que arrojaron valores de equivalencia de P realistas para los niveles de CBP utilizados en el presente ensayo fueron los datos de tibia. Después de la respuesta lineal significativa ($P < 0.001$), las ecuaciones; TRF, kg ($Y = 28.16X + 17.42$ $R^2 = 0.84$); Tibia Ca,% ($Y = 11.6X + 14.2$ $R^2 = 0.80$); Tibia P,% ($Y = 11.6X + 6.1$ $R^2 = 0.81$); y T ash,% ($Y = 33.3X + 38.1$ $R^2 = 0.80$). En las condiciones experimentales de este ensayo, las variables HPP no fueron un parámetro sensible para medir la liberación de P; mientras que los parámetros de tibia mostraron los siguientes valores promedio de liberación de P por nivel de inclusión de CBP en la dieta de harina de maíz y soja; 300 FYT / kg = 0.099%, 600 FYT / kg = 0.141%, 1,200 FYT / kg = 0.182% y 1,800 FYT / kg = 0.198%.

1.3 Fitatos

El fósforo (P) se encuentra como un complejo fitato en los ingredientes de los alimentos vegetales. El P fitato generalmente representa aproximadamente dos tercios del P total en semillas de plantas.

El fósforo (P) es uno de los minerales esenciales más importantes y costosos para las aves de corral. Sin embargo, en las dietas a base de granos de cereales, se sabe que del 50% al 85% de P está presente en forma de fitato que las aves de corral utilizan poco (14).

El grado de utilización del P fitato por las aves de corral es bastante variable, oscilando entre el 37 y el 50% en las aves de corral (15).

En dietas para animales monogástricos se considera un antinutriente debido a su capacidad quelante con minerales, carbohidratos, proteínas (16).

1.4 Requerimiento de fosforo

Ahmadi y Rodehutsord (16) reportan un estudio de metanálisis de 12 datos publicados previamente para describir una relación entre los niveles dietéticos de fosforo disponible (AP) y fitasa en gallinas ponedoras de hasta 76 semanas de edad. Los análisis del modelo se basaron en la producción de huevos, la masa de huevos y la FCR revelaron que las dietas que contenían AP tan bajas como 2.2 g/kg sin fitasa suplementaria mostraron un alto rendimiento en las variables mencionadas en gallinas. Sin embargo, en presencia de fitasa a niveles de hasta 400 FTU / kg de alimento, los niveles de AP en la dieta pueden reducirse a 1,4 g/kg.

La alimentación de gallinas Hy Line W 36 con 78 mg / gallina / d de P no fitico (PNP), sin adición de fitasa, tomó 12 semanas para observar una disminución significativa en la producción de huevos en comparación con las gallinas alimentadas con 420 mg / gallina / d de PNP; este ensayo duró 16 semanas (17). Mientras que alimentar a las gallinas Dekalb Delta White con 105 mg / gallina / d de PNP, sin adición de fitasa, tardó 8 semanas en observar una disminución significativa en la producción de huevos, en comparación con las gallinas alimentadas con 486 a 500 mg / gallina / d (18). En estos ensayos, las gallinas alimentadas con niveles bajos de PNP mostraron una parada completa en la producción de huevos después de 17 (19) o 22 semanas (20).

No es aconsejable usar los valores de equivalencia de PNP obtenidos de los datos de respuesta productiva de la gallina, porque estos números, aunque producirán números productivos de gallina adecuados, a mediano y largo plazo, el esqueleto de la gallina sufrirá un proceso de degradación neta, lo que conducirá a la presencia de osteopenia, o dependiendo del grado de deficiencia de PNP, osteoporosis, lo que resulta en una alta incidencia de huesos rotos e incluso el desarrollo de fatiga de gallinas en jaula, condiciones totalmente opuestas al concepto de bienestar de la gallina (21).

Hughes *et al.* (22) mostraron que no había diferencias significativas en las características de producción de las gallinas ponedoras alimentadas con dietas que contenían 3.5 o 2.5 g/kg de fosforo disponible.

1.5 Enzimas

Los aditivos enzimáticos no tienen una función nutricional directa, pero actúan ayudando al proceso digestivo y mejorando la digestibilidad de los nutrientes de la dieta (23). Debido a que cada enzima tiene una reacción específica a ciertos sustratos, el uso de aditivos compuestos de una sola enzima puede ser suficiente para que un nutriente sea utilizado en su máxima extensión, lo que sugiere que las mezclas de enzimas son más efectivas para la utilización de muchos nutrientes dietéticos (24).

1.5.1 Fitasas

La fitasa (fosfohidrolasa de hexafosfato de mioinositol) es una enzima que hidroliza el fitato en el tracto digestivo a fosfatos de inositol y P inorgánico (25).

Hay dos clases principales de fitasas según la posición del grupo fosfato en el anillo de mioinositol, la primera es la 3-fitasa que hidroliza el grupo fosfato desde la posición 3. La segunda es la 6 fitasa, que ac

túa primero en la posición C6 (26).

Cowieson *et al.* (27) reportaron que la adición de fitasa a la dieta del pollo tuvo una influencia importante para disminuir el flujo de aminoácidos endógenos, aumentar la digestibilidad de las proteínas, los aminoácidos y el fósforo, así como la disponibilidad de energía de la dieta.

La capacidad de la fitasa para mejorar la disponibilidad de nutrientes dietéticos en las aves de corral depende de la composición de la dieta, el contenido mineral de la dieta, las condiciones endógenas como el rango de pH del GIT, las fuentes de fitasa, las especies de aves y la edad (9).

1.5.2 Dosis de fitasas

Una FTU (unidad de enzima fitasa) es equivalente a la cantidad de enzima que libera un micromol de P inorgánico por minuto a partir de 0,0051 mol / L de fitato de sodio a 37 ° C y pH = 5,5 (28).

Algunos estudios sugirieron que el nivel de inclusión recomendado de fitasa en las dietas avícolas es de 500 unidades de fitasa (FTU)/Kg (29). Sin embargo, el uso de niveles más altos de fitasa en las dietas de animales recientemente ha ganado una atención creciente, especialmente para las dietas de aves de corral. Se informa que más de 1,000 FTU / kg de fitasa mejoraron la utilización de P y otros nutrientes en las dietas alimentadas a pollos de engorde en comparación con los niveles recomendados (30).

La adición de 500 FTU / kg de fitasa hidroliza el 35% del P fitato (31).

Augsburger *et al.* (32) reportaron que los niveles de 10,000 FTU / kg de fitasa en las dietas no tuvieron beneficios en el rendimiento productivo en gallinas ponedoras. Meyer y Parsons (33) tampoco encontraron mejoras en el rendimiento productivo al alimentar dietas que contienen hasta 15,000 FTU / kg de fitasa a las gallinas ponedoras.

La mayoría de estudios sobre fitasas realizados en gallinas de postura y publicados han incluido dosis de 300 a 400 FTU / kg, (34).

Mellef *et al.* (35) no observaron diferencias al evaluar 400, 800 y 1200 FTU / kg en 2000 gallinas de postura Shaver de 30 semanas de edad.

Silva *et al.* (36) no encontraron diferencias con 300, 600 o 1200 FTU/kg en gallinas de postura Lohmann Brown de 44 semanas de edad.

Agbede *et al.* (37) probaron 0 y 1000 FTU / kg entre las semanas 18 y 22, sin cambios en la respuesta a la adición de fitasa.

1.5.3 Factores que afectan la eficacia de la fitasa

La composición de la dieta es un factor, debido a la variación en la composición, el nivel y la ubicación del fitato, así como la contribución de la fitasa intrínseca en algunas semillas oleaginosas y cereales, la tasa de hidrólisis del fitato por la fitasa microbiana puede diferir en gran medida en estos ingredientes de origen vegetal (38). La liberación de P debido a la fitasa agregada varía en los diferentes ingredientes del alimento. Por ejemplo, la adición de fitasa aumentó el P disponible en maíz, harina de soya, trigo, semillas de trigo, cebada, salvado de arroz desgrasado y canola de 30.8 a 59.0%, 34.9 a 72.4%, 30.7 a 46.8%, 29.1 a 52.2%, 32.2 a 71.3%, 33.2 a 48.0%, y 36.7 a 55.8%, respectivamente (39). Esto requiere el cálculo de equivalencia de fitasa para alimentos individuales para la formulación precisa de la dieta (9).

La capacidad de la fitasa para mejorar la disponibilidad de nutrientes de la dieta en las aves depende del contenido mineral de las dietas, específicamente Ca y P, lo que puede influir en la efectividad de la fitasa para hidrolizar el fitato en el tracto digestivo (40). Los complejos de Ca-fitato no se hidrolizan fácilmente por la fitasa, lo que resulta en la falta de disponibilidad de P fitato y de Ca ligado en las aves de corral. Investigaciones anteriores han demostrado que las altas concentraciones de Ca en la dieta disminuyen la disponibilidad de P fitato en gallinas ponedoras (41). Los alimentos para aves que contienen calcio pueden tener un gran impacto en la eficacia de la fitasa y la utilización de P fitato. Van der Klis *et al.* (42) informaron que el aumento de Ca en la dieta (de 30 a 40 g / kg) en gallinas ponedoras, disminuyó la degradación del P fitato de aproximadamente 33 a 9% en la dieta sin suplementos de fitasa.

Existen varias fuentes de fitasa que están disponibles en los mercados como fitasa derivada de hongos, por ejemplo, de *Aspergillus niger* y *Aspergillus ficum*. Otras fuentes de fitasa comercial son el resultado de la bacteria *E. coli* o de los hongos *Peniphora lycii* (29). La fitasa de varias fuentes puede tener diversas características, como resistencia a la degradación en el GIT, estabilidad térmica y el pH adecuado de la actividad enzimática óptima (43). Estas características

pueden influir en la liberación de P, por lo que es importante indicar sus efectos en la eficacia de la enzima (44).

El pH del medio es otro factor, la eficiencia de varias fitasas comerciales difiere en un rango de pH de 2.5-4.5 (*in vivo*). Las fitasas de *E. coli* son más activas en un rango de pH 2.5–4.5 que las fitasas fúngicas. Además, la curva de actividad de fitasa a diferentes valores de pH también puede diferir para varias fitasas de *E. coli*, debido a la tecnología de expresión y producción bacteriana (45). La fitasa de *E. coli* (*Schizosaccharomyces pombe*) mostró la mayor actividad incluso en comparación con la fitasa de *E. coli* (*Pichia pastoris*) en el rango de pH de 2 a 5.5. La fitasa de *Aspergillus niger* reveló baja actividad en el mismo pH, mientras que la fitasa de *P. lycii* mostró una actividad óptima a pH 4–5 (46). La actividad de la fitasa fue significativamente mayor con la fitasa de *E. coli* que con la fitasa de *P. lycii* en secciones del tracto digestivo total de pollos de engorde (47). Las actividades de fitasa dependen del pH del GIT, todas las fitasas tienen un pH óptimo que depende de la fuente, y este pH óptimo afectará la capacidad funcional de la fitasa dentro de los tractos GI de los animales Oatway *et al.*, (47).

Otro factor de importancia es la especie de aves. En las aves de corral, el principal sitio de actividad para la fitasa microbiana suplementaria es primero en el buche y luego en la parte superior del tracto digestivo (38). Mientras, Truong *et al.* (48) informaron que el sitio primario del tracto digestivo aviar para la degradación del fitato es la molleja por fitasas bacterianas.

La liberación de P unida por la fitasa (100 FTU) en pollos de engorde es claramente menor que en gallinas ponedoras. La hidrólisis del fitato de SBM sin suplementación de fitasa fue mayor en gallinas ponedoras que en pollos de engorde. La diferente respuesta a la fitasa entre las gallinas ponedoras y los pollos de engorde puede estar relacionada con la diferencia en el tiempo de retención de la digesta y el equilibrio microbiano intestinal (madurez) entre las gallinas y los pollos de engorde (49).

1.5.4 Fitasa, Fosforo, Calcio Y Medula ósea

Un parámetro importante a considerar es el efecto de alimentar diferentes niveles de P sobre la composición ósea, porque la gallina ha sido objeto de selección genética; para convertirse en un productor de huevos muy eficiente, su metabolismo óseo se ha vuelto muy activo y eficiente (50). La cáscara de un huevo contiene aproximadamente 2,3 g de Ca (51).

Una gallina ponedora moderna puede producir 426 huevos en un ciclo de producción de 90 semanas (52), lo que significa el depósito de 980 g de Ca.

El esqueleto de la gallina representa alrededor del 11% del peso corporal vacío de una gallina (53). Los depósitos de la gallina eran casi 5.2 veces el peso de su esqueleto como Ca en la cáscara de huevo. Esta utilización extraordinaria de Ca es posible debido al desarrollo del hueso medular; Este tipo de hueso es exclusivo de las aves hembra en estado reproductivo y también se ha encontrado en fósiles de dinosaurios no aviares, como los terópodos *Tyrannosaurus rex* y *Allosaurus fragilis*, pero no en ningún otro animal o fósil (54).

Al comienzo de la madurez sexual, la función de los osteoblastos cambia de formar hueso cortical lamelar a producir el tejido del hueso medular (55). Una característica única del hueso medular es su capacidad para ser rápidamente reabsorbido por los osteoclastos y depositado por los osteoblastos (56). Para la formación de hueso medular, es necesaria la presencia de Ca y P en el torrente sanguíneo, porque los cristales de hidroxiapatita de fosfato de calcio forman hueso.

Cuando la gallina se alimenta con bajos niveles de P durante largos períodos, no puede acumular sus reservas de hueso medular. Entonces, con el tiempo, la gallina comienza a tomar el Ca que necesita para la formación de la cáscara de huevo de su hueso estructural, tanto cortical como trabecular; y debido a que estas 2 formas de hueso no pueden reabsorberse y depositarse tan fácilmente como el hueso medular, la gallina comienza a mostrar huesos débiles (56).

Por lo tanto, al evaluar el efecto de la enzima fitasa en la utilización de P de gallina ponedora, será necesario considerar por un lado el tiempo que le toma a la gallina mostrar el efecto de la baja ingesta de P en la producción de huevo, así como su efecto sobre la resistencia y composición ósea (57).

Una característica única del hueso medular es su proceso de renovación rápida, definido por Parfitt (58) como el volumen total de hueso que se reabsorbe y se forma durante un período de tiempo. El proceso de recambio óseo es más lento en el hueso estructural; entonces, cuando la gallina consume todas sus reservas de hueso medular, la formación de cáscara de huevo continúa, pero usando el hueso estructural y debido a que no se puede formar tan rápido como el hueso medular, comienza un proceso de degradación de los huesos que termina en huesos frágiles e incluso en fatiga de gallina en jaula y mortalidad. El hueso cortical tiene una estructura laminar, para cumplir su función de soporte y protección de los tejidos blandos de la gallina; mientras que el hueso medular tiene una estructura tejida, destinada a proporcionar una fuente de Ca lábil para la formación de la cascara (59). En circunstancias normales, la gallina obtiene el Ca necesario para la formación de la cascara del alimento y del hueso medular (60), y este hueso se restaura rápidamente mediante un proceso de remodelación ósea. Sin embargo, cuando las gallinas son alimentadas con cantidades deficientes de P, el proceso de recambio óseo medular se interrumpe, porque el proceso de reabsorción ósea continúa proporcionando Ca para la formación de la cascara, y dependiendo del grado de deficiencia de P.

El proceso de formación ósea puede ser ralentizado a totalmente detenido porque no hay suficiente P para formar los cristales de hidroxapatita de fosfato de calcio. El P liberado de la resorción ósea a la circulación sanguínea crea un exceso momentáneo de P en la sangre y es eliminado por los riñones; por lo tanto, cuando los niveles de Ca aumentan a partir de la ingesta de alimento, no habrá suficiente P para la formación de hueso, como resumen, la deficiencia de P conduce a una degradación ósea del esqueleto de gallina.

II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

2.1 Tipo y nivel de investigación

Investigación experimental aplicada

2.1.1 Población y tamaño de muestra de las gallinas a utilizar

Población y muestra

Se utilizo 80 gallinas de postura. El cálculo de la muestra se realizó utilizando la fórmula de comparación de medias para contraste de hipótesis reportada por Gallego (61):

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

Dónde:

Z_{α} = valor de Z correspondiente al riesgo α fijado = 0.05 (1.96);

Z_{β} = valor de Z correspondiente al riesgo β fijado = 0.20 (0.842);

S = desviación estándar (*) = ± 3.2 (masa de huevo)

d = valor mínimo de la diferencia en la masa de huevo que se desea detectar en los huevos de gallinas (6).

(*) = El valor referencial de desviación estándar de la masa de huevo

$$n = 2(1.96 + 0.842)^2 * 3.2^2 / 6^2 = 4.43 = 4 \text{ gallinas}$$

Se necesita 4 gallinas por unidad experimental

Sin embargo, dado la disponibilidad, se aumentará el tamaño de la muestra a 8 aves por unidad experimental. Considerando 4 grupos experimentales como tratamiento y 4 repeticiones por cada uno, se tienen 16 unidades en total, lo que corresponde a 128 gallinas de postura.

2.2 Técnicas e instrumentos de la recolección de información

- a. Observación
- b. Registros
- c. Hojas de cálculo de Excel

2.3 Lugar y fecha de ejecución

El presente experimento se llevo a cabo en el galpón de enseñanza, investigación y extensión en gallinas de postura y el Laboratorio de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” - ICA – Ex - Fundo Hijaya Chincha – Ica – Perú.

La fecha probable de inicio es el mes de enero del 2020, y con un tiempo de duración de 8 semanas aproximadamente.

LOCALIZACION GEOGRAFICA Y METEOROLOGICA.

Latitud	13°27'45''
Longitud	76°08'00''
Altitud	50 msnm
Temperatura min. promedio	19.25°C
Temperatura max. promedio	26.95°C
Humedad Relativa m. promedio.....	58.75 %
Humedad Relativa M. promedio	93.25 %

Fuente: Estación Meteorológica de Chincha (62)

2.4 Materiales y equipo

2.4.1 Instalaciones y jaulas

El material a utilizar para cada corral fue malla metálica.

Cada uno de los casilleros tenía sus bebederos y comederos individuales.

2.5 Metodología experimental

2.5.1 Etapa pre-experimental

Esta etapa tuvo una duración de 2 semanas aproximadamente.

Durante la etapa preexperimental se acondiciono las instalaciones, corrales experimentales, materiales y equipos respectivos que se utilizó en la prueba, así también se tomaran las medidas necesarias de la bioseguridad.

Cada uno de los casilleros experimentales tuvo un comedero y bebedero independiente para efectos de determinar el consumo del alimento y se confeccionaran registros para la toma de los datos en cada una de las variables a evaluar.

3.5.2 Etapa experimental

Esta etapa tuvo una duración de 8 semanas aproximadamente.

La etapa experimental se inició con la aplicación de los tratamientos y diseño experimental establecido y comprendió un periodo de 8 semanas.

3.5.3 Alimentación y formulación de las dietas

Se formulo una dieta convencional, una dieta con fosforo reducido, una dieta con enzima fitasa suplementada y una dieta reformulada con la matriz nutricional de la enzima fitasa de acuerdo a las recomendaciones de la línea genética de gallinas de postura.

Para la formulación de las dietas se utilizo ingredientes alimenticios clásicos como el maíz molido, torta de soya, aceite de soya, carbonato de calcio, fosfato di cálcico y fuentes de minerales y vitaminas, así como aditivos no nutricionales.

Para la confección de las fórmulas de las dietas alimenticias se utilizo el Software de formulación OPTIMAL de AJINO MOTO y el LP máxima rentabilidad (63).

La alimentación será controlada *ad libitum*

La fitasa que se utilizo es una fitasa producto de la fermentación de *Aspergillus oryzae* y *Aspergillus niger*, Phytex 500 es un complemento alimenticio a base de fitasa, que aumenta

orgánicamente la biodisponibilidad del fósforo y otros minerales. Ahorra 0.1% de fósforo, 1.5% de Proteína y 5% de energía. Las unidades de actividad de fitasa son 500,000 unid/100g. Las unidades fitasicas (FTU) se determinan en un sustrato de fitato de sodio a 37 °C y pH 5.0.

La dosis a utilizar fueron 100 gramos por tonelada de alimento.

2.6 Programa sanitario y de manejo

Todas las aves en prueba recibieron un programa sanitario, alimentación, manejo y condiciones ambientales similares, siguiendo los protocolos que normalmente se emplean bajo las condiciones de la granja.

2.7 Tratamientos experimentales

T-1: Dieta convencional sin fitasa

T-2: Dieta con fósforo, calcio, aminoácidos y energía reducida (testigo negativo)

T-3: Dieta T-1 con fitasa suplementada

T-4: Dieta T-2 con fitasa reformulada

2.8 Diseño experimental

Las aves experimentales se distribuyeron siguiendo el protocolo de un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA). Cada uno de los tratamientos tuvo 4 repeticiones, dando un total de 16 unidades experimentales (8 gallinas por unidad experimental).

2.8.1 Modelo matemático:

Se utilizó el siguiente modelo aditivo lineal:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varphi_{ij}$$

$$i = 1, \dots, t \quad j = 1, \dots, b$$

μ = media general

τ_i = efecto del i -ésimo tratamiento

β_j = efecto del j -ésimo bloque

ϱ_{ij} = error experimental en la unidad j del tratamiento i

$\varrho_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

2.8.2 hipótesis estadística de prueba

Planteamiento de las hipótesis que se probó:

Hipótesis nula:

$H_0: T-1 = T-2 = T-3 = T-4$

Hipótesis alternante:

$H_1: T-1 \neq T-2 \neq T-3 \neq T-4$

2.9 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables evaluadas fueron procesados y analizados estadísticamente mediante los siguientes análisis:

- Análisis de Supuestos estadísticos: Para efectuar un análisis de Varianza confiable, se deben cumplir con algunos supuestos estadísticos como: la independencia de las observaciones, homogeneidad de variancia que mide la homocedasticidad y la Normalidad que nos indicará que los valores numéricos de la variable dependiente siguen una distribución o curva normal.
- Análisis de varianza: Técnica de análisis estadístico que nos permitirá comparar los datos numéricos promedios de los cuatro tratamientos, consistente en dividir la variabilidad observada en componentes independientes atribuidas al efecto de los factores de tratamientos y determinar si estos valores de datos numéricos desde el punto de vista estadístico son significativamente diferentes entre los cuatro tratamientos.
- Prueba de comparación de medias de Tukey: Se aplicó para comparar los promedios de los tratamientos cuando el efecto de tratamiento es significativo a $P \leq 0.05$.
- Estadística descriptiva (Estadígrafos de posición y dispersión, como media aritmética, media geométrica, y desviación estándar).

Para el procesamiento de los datos y su análisis estadístico respectivo se hizo uso del procedimiento del modelo general lineal (MGL) de SAS (64), versión 9.1.

Se fija un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ para los efectos de la significancia estadística.

Los datos obtenidos de algunas variables cuyos valores estén dados en porcentaje serán transformados a valores ArcoSeno para su análisis de varianza y determinar su significancia estadística, mientras que los promedios de esta variable se presentaron en el cuadro de resultados con los datos originales.

III. RESULTADOS

3.1 Respuesta productiva

En la **tabla 1** se presentan los resultados de las variables producción de huevos, consumo de alimento e índice de conversión alimenticia. Según el análisis estadístico nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las tres variables en estudio.

Tabla 1: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre la producción de huevos, consumo de alimento y conversión alimenticia de gallinas de postura ($\bar{x} \pm DE$).

Tratamientos	Producción de huevos (%)	Consumo de alimento (g/ave/día)	Conversión alimenticia (Kg/Kg)
T-1: Testigo normal (sin F)	87.71 \pm 7.72	129.17 \pm 0.19	2.25 \pm 0.21
T-2: Testigo reducido (sin F)	79.53 \pm 12.8	129.19 \pm 0.16	2.52 \pm 0.51
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	87.43 \pm 5.15	129.25 \pm 0.54	2.26 \pm 0.16
T-4: Fitasa (reformulada)	84.71 \pm 6.22	128.82 \pm 0.97	2.25 \pm 0.12
Probabilidad			
P-value (ANVA)		0.7628	0.5678
P-value (K-W)	0.5668		

Significancia estadística: $p \geq 0.05$ ^{NS}; $p \leq 0.10$ ^t; $p \leq 0.05$ ^{*}; $p \leq 0.01$ ^{**}; $p \leq 0.001$ ^{***}

\bar{x} = promedio de 4 repeticiones

DE = desviación estándar

En la **tabla 2** se presentan los resultados de las variables peso y masa de huevo. Según el análisis estadístico nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las dos variables en estudio.

Tabla 2: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el peso y masa de huevo de gallinas de postura ($\bar{x} \pm DE$).

Tratamientos	Peso de huevo (g/huevo)	Masa de Huevo (g/día)
T-1: Testigo normal (sin F)	65.68 \pm 0.98	57.60 \pm 5.04
T-2: Testigo reducido (sin F)	65.92 \pm 3.48	52.66 \pm 10.48
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	65.44 \pm 2.26	57.22 \pm 3.90
T-4: Fitasa (reformulada)	67.70 \pm 2.15	57.28 \pm 3.15
Probabilidad		
P-value (ANVA)	0.4836	0.7155
P-value (K-W)		

Significancia estadística: $p \geq 0.05$ ^{NS}; $p \leq 0.10$ ^t; $p \leq 0.05$ ^{*}; $p \leq 0.01$ ^{**}; $p \leq 0.001$ ^{***}

\bar{x} = promedio de 4 repeticiones

DE = desviación estándar

3.2 Calidad de huevo y ceniza de tibia

En la **tabla 3** se presentan los resultados de las variables de calidad de huevo como unidad Haugh, color de yema e índice de yema. Según el análisis estadístico nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las tres variables en estudio.

Tabla 3: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre valores de unidad Haugh, color de yema e índice de yema de gallinas de postura ($\bar{x} \pm DE$).

Tratamientos	Unidad Haugh (u)	Color de yema (u)	Índice de Yema (relación)
T-1: Testigo normal (sin F)	81.98 \pm 4.52	6.25 \pm 0.45	0.391 \pm 0.01
T-2: Testigo reducido (sin F)	85.98 \pm 3.76	5.68 \pm 0.51	0.389 \pm 0.008
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	83.80 \pm 3.02	5.87 \pm 0.47	0.402 \pm 0.009
T-4: Fitasa (reformulada)	84.00 \pm 5.01	5.43 \pm 0.47	0.395 \pm 0.008
Probabilidad			
P-value (ANVA)			
P-value (K-W)	0.5988	0.1735	0.1953

Significancia estadística: $p \geq 0.05$ ^{NS}; $p \leq 0.10$ ^t; $p \leq 0.05$ ^{*}; $p \leq 0.01$ ^{**}; $p \leq 0.001$ ^{***}

\bar{x} = promedio de 4 repeticiones

DE = desviación estándar

En la **tabla 4** se presentan los resultados de las variables de calidad de huevo como el porcentaje de cáscara y color de cáscara de huevo. Según el análisis estadístico nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las tres variables en estudio.

Tabla 4: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el porcentaje de cáscara y color de cáscara de huevo de gallinas de postura ($\bar{x} \pm DE$).

Tratamientos	Cáscara (%)	Color cáscara (u)
T-1: Testigo normal (sin F)	10.26 \pm 0.86	6.25 \pm 0.95
T-2: Testigo reducido (sin F)	9.56 \pm 0.48	6.50 \pm 0.57
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	10.55 \pm 0.62	6.25 \pm 0.95
T-4: Fitasa (reformulada)	10.03 \pm 0.55	6.25 \pm 0.95
Probabilidad		
P-value (ANVA)		
P-value (K-W)	0.2623	0.9842

Significancia estadística: $p \geq 0.05$ ^{NS}; $p \leq 0.10$ ^t; $p \leq 0.05$ ^{*}; $p \leq 0.01$ ^{**}; $p \leq 0.001$ ^{***}

\bar{x} = promedio de 4 repeticiones

DE = desviación estándar

En la **tabla 5** se presentan los resultados de las variables porcentaje de ceniza en tibia y cáscara de huevo. Según el análisis estadístico nos indica que no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en ninguna de las tres variables en estudio.

Tabla 5: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el porcentaje de ceniza de tibia de gallinas y porcentaje de ceniza de cáscara de huevo de gallinas de postura ($\bar{x} \pm \text{DE}$).

Tratamientos	Ceniza de tibia (%)	Ceniza de Cáscara de huevo (%)
T-1: Testigo normal (sin F)	44.25 \pm 1.50	96.15 \pm 1.00
T-2: Testigo reducido (sin F)	45.36 \pm 1.34	95.36 \pm 0.64
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	44.12 \pm 1.62	96.11 \pm 0.21
T-4: Fitasa (reformulada)	45.29 \pm 1.50	96.28 \pm 0.80
Probabilidad		
P-value (ANVA)		
P-value (K-W)	0.5623	0.3702

Significancia estadística: $p \geq 0.05^{\text{NS}}$; $p \leq 0.10^{\text{t}}$; $p \leq 0.05^{\text{*}}$; $p \leq 0.01^{\text{**}}$; $p \leq 0.001^{\text{***}}$

\bar{x} = promedio de 4 repeticiones

DE = desviación estándar.

3.3 Evaluación económica

En la **tabla 6** se observa las diferencias en el costo del alimento (s/kg). La dieta correspondiente al T-4 reformulada con fitasa logró el menor costo que representa 2.4% menor comparado a la dieta testigo convencional. En cuanto al margen sobre el costo de alimentación para producir 1 Kg de masa de huevo fue mayor para la dieta T-4 reformulada con fitasa, lo que representa una retribución económica de 5.90% más que el tratamiento testigo convencional. La dieta con el menor margen y retribución económica fue para el T-2 que fue reducida en energía metabolizable, calcio y fosforo.

Tabla 6: Efecto de una enzima fitasa reformulada en la dieta sobre el costo de alimento (S/Kg de alimento), margen sobre costo de alimentación (S/Kg de masa de huevo, MSCA) y retribución económica (%) de gallinas de postura.

Tratamientos	Costo alimento ¹ (S/Kg)	MSCA ² (S/Kg)	Retribución económica (%)
T-1: Testigo normal (sin F)	1.625	4.3800	100.00
T-2: Testigo reducido (sin F)	1.595	3.7915	86.56
T-3: Fitasa (<i>on top</i>)	1.631	4.2135	96.19
T-4: Fitasa (reformulada)	1.586	4.6030	105.90

¹El consumo de alimento total (Kg/gallina): 7.23 (T-1), 7.23 (T-2), 7.24 (T-3), 7.21 (T-4)

²La masa de huevo producido (Kg/gallina): 3.2256 (T-1), 2.9489 (T-2), 3.2043 (T-3), 3.2076 (T-4)

Precio de 1 kg de huevo a la venta: S/ 5.00

IV. DISCUSIÓN

Bajo las condiciones del estudio, las variables evaluadas para todos los tratamientos fueron estadísticamente similares. Según los resultados obtenidos se indica que la estrategia de incluir enzima fitasa con reformulación no afectó negativamente las principales características de la respuesta productiva y tampoco afectó negativamente las características de calidad de huevo. Es importante destacar que la dieta testigo con reducción de energía metabolizable (EM), fósforo disponible (Pd), calcio (Ca) y aminoácidos (AAs) no causó ningún efecto adverso sobre las variables evaluadas. Una explicación parcial de este resultado, según indica Pongmanee *et al.* (64). Una explicación parcial de este resultado, es que las recomendaciones actuales de Ca y Pd proporcionadas por los criadores primarios probablemente sean sustancialmente más altas de lo que realmente requieren las gallinas.

Consecuentemente o de ello se deduce que o se desprende que el perfil de la dieta de cualquiera de los tratamientos da los mismos resultados. Si bien, desde el punto de vista productivo no hubo efecto, sin embargo, desde el punto de vista económico se encontró una mejora de los costos y margen económico con la inclusión de fitasa reformulada.

Al comparar la dieta reducida en energía metabolizable (EM) y nutrientes (T-2) hay una reducción de 68.75 Kcal, 0.10% de fósforo disponible, 0.01 de calcio y 0.01% de aminoácidos esenciales limitantes. Si bien no hubo efecto significativo, pero se observa una diferencia numérica (producción de huevos y masa de huevo), que fue baja en este tratamiento reducido en EM. Lo que pudo conllevar a la diferencia en el margen y retribución económica.

Según estudio de Martínez Rojas *et al.* (65) cuando disminuyó el nivel de Pd de 0,25 a 0,12 % con Ca adecuado al 3,50 % no redujo el contenido de cenizas y la fuerza a la rotura ósea (BBS) en gallinas Hy-Line W36.

La estrategia *on-top*, no demostró mejora alguna, lo que se debe tomar en cuenta para su aplicación práctica a nivel comercial dependiendo de las condiciones predominantes.

En caso de esta suplementación hay que tomar en cuenta sobre las bases o mecanismo de acción de la fitasa sobre los fitatos.

La menor disponibilidad de nutrientes en presencia de fitatos no se debe a la acción de los fitatos, sino a los aniones PA (IP6-3), que se unen a iones metálicos, aminoácidos y proteínas cargados positivamente. La disponibilidad de nutrientes aumenta como consecuencia de la disminución de su unión provocada por la disminución de la concentración de aniones IP (6-3) bajo la acción de

las fitasas. Las fitasas añadidas a los piensos juegan un papel menor en la digestión de los fitatos en comparación con las enzimas naturales y complementan su acción. El concepto de efecto extrafosfórico no tiene justificación científica, ya que las fitasas exhiben únicamente actividad fosfohidrolasa y no son capaces de catalizar otras reacciones (66).

Con la inclusión de la enzima fitasa bajo la estrategia de reformulación en la dieta se redujo el costo de la dieta y el costo de la alimentación, así como un mayor margen sobre costo de alimentación por Kg de masa de huevo producido que corresponde a 5.09%, sin afectar negativamente la respuesta productiva y características de la calidad de huevo.

Nuestros resultados concuerdan con el estudio de Pongmanee *et al.* (67) quienes no observaron diferencias en la respuesta productiva de las gallinas, la calidad de la cáscara del huevo, la resistencia a la rotura de los huesos, la ceniza de los huesos y la digestibilidad del fósforo entre los tratamientos control positivo (CP) (0.38% Pd, 3.73% Ca y 0.15% de Na) y control negativo (CN) (0.19% de Pd, 3.02% Ca y 0.13% de Na) en gallinas de postura Lohmann LSL-Lite de 29 a 37 semanas de edad. Cuando suplementaron la dieta del CN con 6-fitasa de *Escherichia coli* a 150 (CN + 150), 300 (CN + 300), 600 (CN + 600) o 1200 (CN + 1200) unidades de fitasa (FTU)/kg; y la dieta PC suplementada con fitasa a 1.200 (CP + 1.200) FTU/kg. Las gallinas del CN tuvieron la más baja densidad mineral ósea cortical ($P < 0,001$) y trabecular + medular ($P = 0,004$) y un contenido mineral óseo total ($P < 0,001$) más bajos que las gallinas del CP. El CP + 1.200 aumentó la densidad mineral ósea cortical ($P < 0,001$). Las reducciones de Pd y Ca en la dieta del CN no fueron deficientes para el rendimiento, pero tuvieron un impacto menor en la mineralización ósea. El CN + 600 y CN + 1,200 aumentaron la digestibilidad ileal aparente (AID) del P ($P = 0,024$), y todos los tratamientos con fitasa excepto el CN + 150 aumentaron la AID de Ca ($P = 0,010$) en comparación con la dieta CN. Desde el punto de vista de la biología ósea, las gallinas del CN comenzaron a movilizar hueso al final de la prueba, lo que resultó en una disminución de la densidad mineral ósea (BMD) y contenido mineral óseo (BMC); sin embargo, esto no pareció causar osteoporosis u otros problemas óseos.

El aumento de la digestibilidad de P y Ca por la suplementación con fitasa dio como resultado algunos aumentos, aunque inconsistentes, en las medidas óseas. Las implicaciones de la alimentación a largo plazo de la dieta CN para determinar la eficacia de la fitasa en gallinas ponedoras deben estudiarse más a fondo. Los estudios de fitasa a corto plazo deben diseñarse con reducciones adicionales en Ca y Pd para evaluar adecuadamente la eficacia de las fitasas, mientras se minimiza el riesgo de problemas óseos graves (67).

Un estudio de Ren *et al.* (68) en gallinas ponedoras Hy-Line Brown de 29 a 40 semanas de edad, donde se formuló una dieta a base de harina de soya y maíz, sin roca fosfórica inorgánica, que

contenía 0,12 % de fósforo no fitato (nPP), 3,8 % de calcio y 2000 FTU/kg de fitasa. Se complementó la dieta basal con roca de fosfato inorgánico (fosfato dicálcico) para crear otras 6 dietas que contenían 0,17, 0,22, 0,27, 0,32, 0,37 y 0,42 % de nPP (con niveles de calcio similares).

Como resultado, cuando se complementó con 2000 FTU/kg de fitasa, la suplementación adicional de roca de fosfato inorgánico no tuvo efectos ($P < 0,05$) sobre los niveles de fósforo sérico, los niveles de calcio sérico, el rendimiento de la puesta (tasa de postura, peso del huevo, consumo de alimento, relación alimento-huevo y tasa de huevo no calificada), calidad del huevo (grosor de la cáscara, resistencia de la cáscara, altura de la albúmina, color de la yema y unidad Haugh) y parámetros de calidad de la tibia (resistencia a la ruptura y contenido de ceniza, calcio y fósforo). Esto demuestra que no hay necesidad de mantener grandes márgenes de seguridad en el fósforo de la dieta cuando las gallinas son alimentadas con fitasa. Según este resultado de Ren, nos indica que es suficiente una dieta con 0.12% de nPP + 2000 FTU/Kg de fitasa. En el caso de nuestro estudio donde el nivel de Pd fue de 0.23%, probablemente fue alto, ya que como se indicó antes, hubo un mayor consumo de Pd (297 mg/día) comparado a lo recomendado por el NRC, 1994 (250 mg/día) lo que también explicaría en parte los efectos no significativos del menor nivel utilizado en el presente estudio.

Otro estudio de Javadi et al. (66) concluyen que cuando se aplicó una dieta deficiente en Ca y P (2.97% y 0.20% nPP), la inclusión dietética de fitasa a dosis bajas (500 FTU/kg) permitió una mejora en la eficiencia digestiva del P durante las primeras semanas posteriores a la introducción. Sin embargo, cuando este tipo de dieta deficiente se mantiene a largo plazo, las gallinas ponedoras parecen mejorar su capacidad digestiva de utilización tanto de Ca como de P, siendo necesario incluir una mayor dosis de fitasa (1000 FTU/kg) para lograr mayor disponibilidad de P en la dieta.

Por otro lado, esta sobredosificación permitió una serie de ventajas extrafosfóricas adicionales, mejorando levemente el acceso a otros nutrientes y la tasa de conversión alimenticia de las gallinas, además de favorecer la recuperación de algunos rasgos relacionados con la calidad de la cáscara y mineralización ósea que empeoró con la dieta deficiente.

Por tanto, debido a estos fenómenos de compensación y los posibles efectos extrafosfóricos, sería recomendable aumentar la dosis de fitasa en el alimento de las gallinas ponedoras para conseguir beneficios a largo plazo.

Una dieta con 0,15% de P disponible (AP) sostuvo la producción óptima de huevos de 20 a 70 semanas de edad (20).

Según estudios, niveles variables de fitasa complementada con una dieta sin P agregado encontraron que 200 U de fitasa/kg de alimento fueron suficientes para mejorar el rendimiento del huevo y que la suplementación adicional con fitasa no proporcionó beneficios adicionales. Otros estudios, demostraron que 100 U/kg de fitasa evitaron el efecto nocivo de una dieta de harina de maíz y soja que contenía 0,10 % de AP sobre el rendimiento del huevo en ciclos de postura de 40 a 50 semanas (42)(20).

Los resultados de un estudio de metaanálisis de 14 ensayos en los que se determinaron los requerimientos de fósforo no fitato (nPP) de las gallinas ponedoras en presencia de fitasa, indicaron que los niveles óptimos de nPP en la dieta de las gallinas ponedoras fueron 0.18, 0.15 y 0.14 % cuando la dieta contenía 150, 300 y 400 unidades de fitasa (FTU)/Kg, respectivamente (16).

En general, el contenido de nPP de la dieta basal de gallinas ponedoras (sin suplementos de fosfato inorgánico) es de alrededor de 0,12 %. Es decir, para cubrir los requerimientos de las ponedoras, un nutricionista de gallinas ponedoras sólo necesita agregar 0,11% de fosfato dicálcico ($2\text{H}_2\text{O}$, contiene 18% de fósforo), que puede aportar 0,02% nPP, cuando la dieta basal contiene 0.12% nPP y 400 FTU/kg de fitasa (68).

Algunos investigadores coinciden que las gallinas ponedoras pueden adaptarse fisiológicamente a dietas bajas en fósforo y calcio y mantener el rendimiento, dependiendo del grado de deficiencia de nutrientes (20) y variando con las líneas genéticas (22).

El consumo de Pd de las gallinas alimentadas con la dieta reducida fue de 297 mg/día que fue mayor a la recomendación del NRC de 250 mg/día por gallina (NRC, 1994), lo que representa un 18.8% más de dicha recomendación.

La red de homeostasis del fósforo corporal permite que las gallinas ponedoras se adapten a una amplia gama de cambios en los niveles de fósforo en la dieta (68). La fitasa hidroliza el fitato produciendo fósforo y reduce los requerimientos de roca de fosfato inorgánico de las gallinas ponedoras (68).

Las reducciones adicionales de los niveles de Pd y Ca por debajo de los requerimientos reales en las dietas de las gallinas ponedoras pueden permitirnos observar el efecto de la fitasa y comprender mejor los cambios en la mineralización ósea en las gallinas ponedoras (67).

La fitasa se complementa con alrededor de 2000 FTU/kg en las dietas de gallinas ponedoras en China (Guo et al., 2018). Con esta suplementación con dosis altas de fitasa, el nivel de nPP en la dieta se establece en un 0,36 % (eso significa que $0,36 - 0,12 = 0,24$ % de nPP se complementa

en forma de roca de fosfato inorgánico adicional) en las dietas de las gallinas ponedoras (Guo et al. al., 2018). Esto indicaría que se está utilizando niveles altos de Pd bajo esas condiciones. Estos avances en la nutrición con fósforo plantean nuevos argumentos con respecto a los valores nutricionales y fisiológicos de los grandes márgenes de seguridad del fósforo en las dietas de las gallinas ponedoras (16).

La eficacia de una fitasa no es automática, es decir sea que se utilice alta dosis, super dosis, matriz, *on top*, etc, sino que debemos considerar los factores que complementan o que ejercen influencia sobre su efectividad, como por ejemplo la fase de postura, la línea genética de la gallina, nivel de calcio, contenido del sustrato objetivo (fitato), los ingredientes de la dieta, el porcentaje de postura, la calidad de agua, estado sanitario, salud intestinal, entre otros.

Según reporte de investigación, la inclusión de fitasa en la dieta a 250-500 unidades FTU puede mejorar la absorción de P en la dieta (20 (34)

Respecto a su posible efecto en la mejora de la energía y la utilización de proteínas en la dieta y, por lo tanto, sobre el rendimiento y mineralización ósea en gallinas de postura (29) aun es poco conocido.

Para mejorar la utilización de estos nutrientes, algunos autores mencionan que la superdosificación de estas fitasas exógenas (1000 FTU o más) podría eliminar los fitatos de la dieta, contribuyendo a una mejora en el valor nutricional de la dieta (69).

Javadi et al. (66) en su discusión de su estudio reporta una revisión de literatura citando a varios autores (7 autores), donde indica que las dietas con 0,15–0,25 % de nPP y en ausencia de fitasa (42) (20) y las dietas con 0,10–0,15 % de nPP suplementadas con fitasa (20) son suficientes para mantener un desempeño satisfactorio en la producción de huevos durante el ciclo de puesta.

Si bien será necesario realizar más estudios y se deberán involucrar más criterios económicos o fisiológicos, nuestros resultados sugieren que los niveles actuales de nPP de la industria son más altos que los requerimientos de las gallinas ponedoras y deberán reducirse por objetivos económicos y ambientales (68).

Los valores nutricionales y fisiológicos de los grandes márgenes de seguridad del fósforo en la dieta deben reconsiderarse en las gallinas ponedoras, especialmente cuando se aplican tecnologías reductoras de fósforo (como la fitasa) (68).

Investigación adicional sobre la homeostasis del fósforo en el cuerpo ayudaría a comprender la razonabilidad nutricional y fisiológica de formular dietas bajas en fósforo en la industria de las gallinas ponedoras (68).

Finalmente, en base a los resultados del presente estudio creemos que el nivel de 0.23% de Pd (T-2) fue alto y que estaría acorde al requerimiento de Pd en la dieta de gallinas de postura. Complementariamente destacamos con preocupación que a nivel de la industria de gallinas de postura se vienen utilizando valores altos que estarían excediendo el requerimiento real de Pd en las dietas de gallinas de postura para mantener una respuesta productiva y calidad de huevo adecuado y que es necesario que sean reevaluados.

V. CONCLUSIÓN

- 4.1. La inclusión de una enzima fitasa reformulada en la dieta no tuvo efecto significativo sobre la respuesta productiva de gallinas de postura.
- 4.2. La inclusión de una enzima fitasa reformulada en la dieta no tuvo efecto significativo sobre las características de calidad de huevo de gallinas de postura.
- 4.3. La inclusión de una enzima fitasa reformulada en la dieta mejoró el margen sobre costo de alimentación (S/Kg de masa de huevo) y retribución económica (%) de gallinas de postura.

VI. RECOMENDACIONES

- 6.1.** Realizar estudios considerando niveles de fosforo disponible más bajo que los evaluados en este estudio.

- 6.2.** Realizar estudios comparativos con diferentes fitasas de uso comercial y con niveles de fosforo disponible más bajo que los evaluados en este estudio.

- 6.3.** Realizar estudios con inclusión de fitasas bajo reformulación en la dieta en etapas iniciales de producción y ver sus efectos sobre calidad de huevo y margen económico.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Liu, N.; Liu, G. H.; Li, F. D.; Sands, J. S.; Zhang, S.; Zheng, A. J. and Ru, Y. J.. Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets, 2007; *Poultry Science* 86:2337-2342.
2. Woyengo, T. A. and Nyachoti, C.M. Review: anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry — current knowledge and directions for future research. *Can. J. Anim Sci*, 2013; 93:9–21.
3. Lenis, N. P. and Jongbloed, A.W. New technologies in low pollution swine diet: Diet manipulation and use of synthetic acids, phytase and phase feeding for reduction of nitrogen and phosphorus excretion and ammonia emission—Review. *Asianaustralas. J. Anim Sci*, 1999; 12:305–327.
4. Zyla, K.; Mika, M.; Stodolak, B.; Wikiera, A.; Koreleski, J.; Swiatkiewicz. Towards complete dephosphorylation and total conversion of phytases in poultry feeds. *Poultry Sci*, 2004; 83: 1175–1186.
5. Slominski, B.A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. *Poultry Science*, 2011; 90:2013–2023. doi: 10.3382/ps.2011-01372.
6. Lopez, H.; Kanitz, F.D.; Moreira, V.R.; Wiltbank, M.C.; Satter, L.D. Effect of dietary phosphorus on performance of lactating dairy cows: milk production and cow health. *J Dairy Sci*, 2004; 87 (1):139–45.
7. Costa, F. G. P.; Brandão, P. A.; Brandão, J. S. and Silva, J. H. V. Efeito da enzima fitase nas rações de frangos de corte, durante as fases pré-inicial e inicial. *Ciência e Agrotecnologia*, 2007; 31:865-870. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000300037>

8. Slominski, B.A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. *Poultry Science*, 2011; 90 :2013–2023. doi: 10.3382/ps.2011-01372.
9. Abd El-Hack, M.E.; Alagawany, M.; Arif, M.; Emam, M.; Saeed, M.; Arain, M.A.; Siyal, F.A.; Patra, A.; Elnesr, S.S.; Khan, R.U. The uses of microbial phytase as a feed additive in poultry nutrition – a review. *Ann. Anim. Sci*, 2018; Vol. 18, No. 3, 639–658 DOI: 10.2478/aoas-2018-0009
10. Silversides, F. G. and Hruby, M. . Feed formulation using phytase in laying hen diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 2009; 18:15-22. <https://doi.org/10.3382/japr.2008-00035>
11. Habibollahi, M.; Abousadi, M.A.; Nakhaee, P. The Effect of Phytase on Production Performance, Egg Quality, Calcium and Phosphorus Excretion, and Fatty Acids and Cholesterol Concentration in Hy-Line Layers Fed Diets Containing Rice Bran, *The Journal of Applied Poultry Research*, 2019; September; Volume 28, Issue 3, , Pages 688–698, <https://doi.org/10.3382/japr/pfz020>
12. Shet, D.; Ghosh, J.; Ajith, S.; Awachat, V.B.; Elangovan, A.V. Efficacy of dietary phytase supplementation on laying performance and expression of osteopontin and calbindin genes in eggshell gland. *Animal Nutrition*, 2017; 4; 52 - 58.
13. Fernandez, S.R.; Charraga, S.; Avila-Gonzalez, E. 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*, 2019; 98:2087–2093 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey558>
14. Selle, P.H.; Ravindran, V. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2007; 135, 1–41
15. Robertson, K.D. and Edwards, Jr. H.M. Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on zinc utilization in broiler chicks. *Poultry Sci*, 1994; 73: 1312–1326.
16. Ahmadi, H. and Rodehutsord, M. A meta- analysis of responses to dietary nonphytate phosphorus and phytase in laying hens. *Poult Sci*, 2012; 912: 2072–2078

17. Gordon, R. W. and Roland Sr., D.A. Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. *Poult. Sci*, 1997; 76:1172–1177.
18. Boling, S.D.; Douglas, M.W.; Johnson, M.L.; Wang, X.; Parsons, C.M.; Koelkebeck, K.W.; Zimmerman, R.. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poult. Sci*, 2000; 79:224 - 230.
19. Snow, J. L.; Douglas, M.W.; Koelkebeck, K.W.; Batal, A.B.; Persia, M.E.; Biggs, P.E., Parsons, C.M. Minimum phosphorus requirement of one-cycle and two-cycle (molted) hens. *Poult. Sci*, 2004; 83:917–924.
20. Boling et al., 2000a S.D.M.W.Douglas Boling, M.L. Johnson, X. Wang, C.M. Parsons, K.W. Koelkebeck, R.A. Zimmerman. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens *Poult. Sci.*, 2000; pp. 224-230
21. Fernandez, S.R.; Charraga, S.; Avila-Gonzalez, E. 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*, 2019; 98:2087–2093 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey558>
22. Hughes, A.L.; Dahiya, J.P.; Wyatt, C.L.; Classen, H.L. The efficacy of quantum phytase in a forty-week production trial using white leghorn laying hens fed corn-soybean meal-based diets. *Poult Sci*, 2008; 87: 1156-1161.
23. Guimarães, I. G.; Falcon, D. R.; Schich, D.; Barros, M. M. and Pezzato, L. E.. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nylo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2009; 61:1397-1402. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000600020>
24. Murakami, A. E.; Fernandes, J. I. M.; Sakamoto, M. I.; Sousa, L. M. G. and Furlan, A. C. Efeito da suplementação enzimática no desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 2007; 29:165-172.
25. Wyss, M.; Brugger, R.; Kronenberger, A.; Remy, R.; Fimbel, R.; Oesterhelt, G.; Lehmann, M.; Van Loon, A.P. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbiol*, 1999; 65: 367–373

26. Zyla, K.; Mika, M.; Stodolak, B.; Wikiera, A.; Koreleski, J.; Swiatkiewicz, S. Towards complete dephosphorylation and total conversion of phytases in poultry feeds. *Poultry Sci*, 2004; 83: 1175–1186
27. Cowieson, A.J.; Ravindran, V.; Selle, P.H. Influence of Dietary Phytic Acid and Source of Microbial Phytase on Ileal Endogenous Amino Acid Flows in Broiler Chickens, *Poultry Science*, 2008; November, Volume 87, Issue 11, Pages 2287–2299, <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00096>
28. Hall, L.E.; Shirley, R.B.; Bakalli, R.I.; Aggrey, S.E.; Pesti, G.M.; Edwards, H.M.Jr. 2. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. *Poult Sci*, 2003; 82: 414-418.
29. Selle, P.H. and Ravindran, V. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim Feed Sci Technol*, 2007; 135:1-41.
30. Cowieson, A.J.; Acamovic, T.; Bedford, M.R. Supplementation of cornsoy- based diets with an *Escherichia coli*-derived phytase: Effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. *Poult Sci*, 2006; 85:1389-97.
31. Camden B.J.; Morel, P.C.H.; Thomas, D.V.; Ravindran, V.; Bedford, M.R.. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soybean meal diets for broilers. *Animal Science Journal*, 2001; 73, 289–297.
32. Augspurger, N.R.; Webel, D.M.; Baker, D.H. An *Escherichia coli* phytase expressed in yeast effectively replaces inorganic phosphorus for finishing pigs and laying hens. *J Anim Sci*, 2007; 85:1192-8
33. Meyer, E.; Parsons, C. The efficacy of a phytase enzyme fed to Hy-Line W-36 laying hens from 32 to 62 weeks of age. *J Appl Poult Res*, 2011; 20: 136-42.
34. Francesch, M.; Broz, J.; Brufau, J. Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize- or barley-based diets. *British Poultry Science*, 2005; 46(3):340-8. doi: 10.1080/00071660500127001
35. Mellef, J.; Dridi, A.; Agrebi, A.; Belhaj, O. Effets de l'ajout de phytase dans la ration alimentaire sur les performances de ponte des poules pondeuses. *R Med*, 2011; Vet.;162(6):304.

36. Silva, J.H.V.d.; Araujo, J.A.d.; Goulart, C.d.C.; Costa, F.G.P.; Sakomura, N.K.; Furtado, D.A. Influência da interação fósforo disponível \times fitase da dieta sobre o desempenho, os níveis plasmáticos de fósforo e os parâmetros ósseos de poedeiras comerciais. *R Bras Zootec*, 2008; 2008;37:2157-65. doi: 10.1590/S1516-35982008001200012.
37. Agbede, J.O.; Adebayo, I.A.; Osho, I.B.; Bankole, O.M. Influence of microbial phytase on amino acid digestibility of caecectomised laying hens fed marginally low methionine-based diet. *Adv Anim Biosci*, 2010; 1(2):453-4. doi: 10.1017/S2040470010000750.
38. Akter, M.; Iji, P.A.; Graham, H. Increasing zinc levels in phytase-supplemented diets improves the performance and nutrient utilization of broiler chickens. *South Afr. J. Anim. Sci.*, 2017; 47: 648–660.
39. Leske, K.L. and Coon, C.N. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poultry Sci*, 1999; 78: 1151–1157.
40. Sandberg, A.S.; Larsen, T.; Sandstrom, B. High dietary Ca levels decrease colonic phytate degradation in pig. *J. Nutr*, 1993; 123: 559–566.
41. Scheideler, S.E. and Sell, J.L. Utilization of phytate P in laying hens as influenced by dietary P and Ca. *Nutr. Reports Int*, 1987; 35: 1073–1081
42. Vander Klis, J.D.; Versteegh, H.A.J.; Simons, P.C.M.; Kies, A.K. The efficacy of phytase in corn–soybean meal-based diets for laying hens. *Poultry Sci*, 1997; 76: 1535–1542.
43. Onyango, E.M.; Asem, E.K.; Sands, J.S.; Adeola, O. Dietary phytates increase endogenous losses in ducks and chickens. *Poultry Sci*, 2004; 83 (Suppl.): 149–150.
44. Kumar, V.; Miasnikov, A.; Sands, J.S.; Simmins, P.H. In vitro activities of three phytases under different pH and protease challenges. In: *Proceedings of the Australian Pig Science Association*, 2003; p.164
45. Tran, T.T.; Hatti – Kaul, R.; Dalsgaard, S.; Yu, S. A simple and fast kinetic assay for phytases using phytic acid-protein complex as substrate. *Anal. Biochem*, 2011; 410: 177–184.

46. Onyango, E.M.; Bedford, M.R.; Adeola, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. *Poultry Sci*, 2005; 84: 248–255.
47. Oatway, L.; Vasanthan, T.; Helm, J.H. Phytic acid. *Food Rev. Int*, 2001; 17: 419–431.
48. Truong, H.H.; Moss, A.F.; Liu, S.Y.; Selle, P.H. Pre- and post-pellet whole grain inclusions enhance feed conversion efficiency, energy utilisation and gut integrity in broiler chickens offered wheat-based diets. *Anim. Feed Sci. Technol*, 2017; 224: 115–123
49. Leske, K.L. and Coon, C.N. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poultry Sci.*, 1999; 78: 1151–1157.
50. Miller, S. C. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen. In *Bone biology and skeletal disorders in poultry*. Br. Poult. Sci. Ltd, 1992; 23:103–116.
51. Bovans White. Bovans White Product Guide Cage Production Systems. Institut de Selection Animale BV. Villa de Koorver. P.O. Box 114, 2017; 5830 AC Boxmeer.
52. Gregory, N. G., and Robins, J.K. A body condition scoring system for layer hens. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1998; 41:555–559.
53. Schweitzer, M.H., Zheng, W.; Zanno, L.; Werning, S.; Sugiyama, T. Chemistry supports the identification of genderspecific reproductive tissue in *Tyrannosaurus rex*. *Sci. Reports*, 2016; 6:1–10.
54. Whitehead, C.C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poult. Sci*, 2004; 83:193–199.
55. Whitehead, C.C., and Fleming, R.H. Osteoporosis in cage layers. *Poult. Sci*, 2000; 79:1033–1041.
56. Fernandez, S.R.; Charraga, S.; Avila-Gonzalez, E. 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*, 2019; 98:2087–2093 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey558>
57. Parfitt, A.M. Misconceptions (2): turnover is always higher in cancellous than in cortical bone, 2002; 30:807–809.

58. Kerschnitzky, M.; Zander, T.; Zaslansky, P.; Fratzl, P.; Shahar, R.; Wagermaier, W. Rapid alterations of avian medullary bone material during the daily egg-laying cycle, 2014; *Bone* 69:109–117.
59. Miller, S. C. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen. In *Bone biology and skeletal disorders in poultry*. *Br. Poult. Sci*, 1992; Ltd. 23:103–116.
60. Hudson, H.A.; Britton, W.M.; Rowland, G.N.; Buhr, R.J. Histomorphometric bone properties of sexually immature and mature White Leghorn hens with evaluation of fluorochrome injection on egg production traits. *Poult. Sci*, 1993; 72:1537–1547.
61. Gallego, F. Cálculo del tamaño de la muestra. *Matronas Profesión*, 2004; vol. 5(18): 5-13.
62. FONAGRO. Información meteorológica diaria de la estación. Chíncha, 2018; SENAMHI. Dirección Regional de Ica 24 p
63. Guevara, V.R. Use of nonlinear programming to optimize performance response to energy density in broiler feed formulation. *Poultry Science*. 2004; 83 (1): 147 151.
64. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, INSTITUTE. User's Guide: Statistics. Version 9.2. Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA, 2008; 230 p.
65. Martínez Rojas I.Y., Ávila González E., Arce Menocal J., Dos Santos T.T., Rubio Arguello J., López Coello C. Assessment of a phytase included with lactic acid on productive parameters and on deposition of phosphorus, calcium, and zinc in laying hens fed with sorghum-soybean-meal-based diets. *J. Appl. Anim. Res*, 2018; 46:314–321. [Google Scholar]
66. Javadi, M.; Pascual, J.J.; Cambra-López, M.; Macías-Vidal, J.; Donadeu, A.; Dupuy, J.; Carpintero, L.; Ferrer, P.; Cerisuelo, A. Effect of Dietary Mineral Content and Phytase Dose on Nutrient Utilization, Performance, Egg Traits and Bone Mineralization in Laying Hens from 22 to 31 Weeks of Age. *Animals*, 2021; 11, 1495. <https://doi.org/10.3390/ani11061495>
67. Pongmanee K, Kühn I, Korver DR. Effects of phytase supplementation on eggshell and bone quality, and phosphorus and calcium digestibility in laying hens from 25 to 37 wk of age, *Poultry*

Science, 2022; Volume 99, Issue 5, Pages 2595-2607, ISSN 0032-5791,
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.051>.

68. Ren Z., Sol w., Xi c., Yarli D., Chong p. La adaptabilidad de las gallinas ponedoras Hy-line Brown a las dietas bajas en fosforo suplementada con fitasa, 2022; 3525-353.

69. Ieda T., Saito N., Shimada K. Effect of low calcium diet on messenger ribonucleic acid levels of calbindin-D28K of intestine and shell gland in laying hens in relation to egg shell quality. Jpn. Poult. Sci, 1999; 36:295–303. [Google Scholar]

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: FORMULA DE LAS DIETAS BALANCEADAS UTILIZADAS

Ingredient Restrictions								
Ingredient	Price (USD)	Min(%)	Max(%)	Usage(%)	Batch(kg)	Cost(USD)	Shadow	T1
Maiz 7.86	0.312			52.5678	525.6784	164.0117		8.831
Torta de soya, 46.5	0.54			15.5243	155.2428	83.8311		2.608
Subproducto de trigo	0.29			15.268	152.6805	44.2773		2.565
CARBONATO DE CALCIO GRUESO	0.062	6.7	6.7	6.7	67	4.154		1.126
Soya integral 37.3	0.527	3	3	3	30	15.81		0.504
CARBONATO DE CALCIO FINO	0.062			2.9678	29.6779	1.84		0.499
Aceite soya	0.878	2	2	2	20	17.56		0.336
MONTAFOS (P monodicalcico) 21	0.65			0.8855	8.8545	5.7554		0.149
SAL COMUN	0.25			0.3115	3.1155	0.7789		0.052
BICARBONATO DE SODIO	0.49	0.2		0.2	2	0.98		0.034
CLORURO DE COLINA	0.86			0.1474	1.4739	1.2676		0.025
METIONINA	2.6			0.1428	1.4281	3.7129		0.024
SECUESTRANTE MICOTOXINAS	3	0.1	0.1	0.1	1	3		0.017
PREMIX MIN+VIT	5	0.1	0.1	0.1	1	5		0.017
ZINC BACITRACINA	3	0.05	0.05	0.05	0.5	1.5		0.008
LISINA	1.72			0.0349	0.3485	0.5994		0.006

ANEXO II: RESULTADOS DE ANALISIS ESTADISTICOS

DATOS DEL ANALISIS DE CASCARA

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	9.6984
2	2	1	9.4978
3	3	1	10.4560
4	4	1	11.3942
5	5	2	9.6805
6	6	2	10.1776
7	7	2	9.0284
8	8	2	9.3751
9	9	3	10.7920
10	10	3	11.3297
11	11	3	9.9456
12	12	3	10.1702
13	13	4	10.1318
14	14	4	10.2858
15	15	4	10.4872
16	16	4	9.2267

DATOS DE CENIZA DE CASCARA

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	95.86
2	2	1	97.37
3	3	1	94.98
4	4	1	96.42
5	5	2	96.26
6	6	2	95.15
7	7	2	95.31
8	8	2	94.74
9	9	3	96.03
10	10	3	95.88
11	11	3	96.16
12	12	3	96.38
13	13	4	95.26
14	14	4	96.42
15	15	4	96.24
16	16	4	97.21

COLOR DE CASCARA

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	95.86
2	2	1	97.37
3	3	1	94.98
4	4	1	96.42
5	5	2	96.26
6	6	2	95.15
7	7	2	95.31
8	8	2	94.74
9	9	3	96.03
10	10	3	95.88
11	11	3	96.16
12	12	3	96.38
13	13	4	95.26
14	14	4	96.42
15	15	4	96.24
16	16	4	97.21

COLOR DE YEMA

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	6.00
2	2	1	6.75
3	3	1	5.75
4	4	1	6.50
5	5	2	5.00
6	6	2	5.75
7	7	2	5.75
8	8	2	6.25
9	9	3	5.50
10	10	3	5.50
11	11	3	6.50
12	12	3	6.00
13	13	4	5.75
14	14	4	5.50
15	15	4	4.75
16	16	4	5.75

CONSUMO

Obs	trt	block	rpta
1	1	1	129.375
2	1	2	128.906
3	1	3	129.250
4	1	4	129.188
5	2	1	129.188
6	2	2	128.969
7	2	3	129.281
8	2	4	129.344
9	3	1	129.250
10	3	2	129.500
11	3	3	129.750
12	3	4	128.500
13	4	1	129.500
14	4	2	129.250
15	4	3	127.375
16	4	4	129.156

CONVERSION

Obs	trt	block	rpta
1	1	1	2.13372
2	1	2	2.15635
3	1	3	2.15575
4	1	4	2.58018
5	2	1	2.81806
6	2	2	3.10195
7	2	3	2.10592
8	2	4	2.09181
9	3	1	2.51621
10	3	2	2.18694
11	3	3	2.19320
12	3	4	2.17238
13	4	1	2.15744
14	4	2	2.15745
15	4	3	2.30261
16	4	4	2.39688

INDICE DE YEMA

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	0.37025
2	2	1	0.39688
3	3	1	0.40075
4	4	1	0.39828
5	5	2	0.37793
6	6	2	0.39910
7	7	2	0.39145
8	8	2	0.39140
9	9	3	0.40433
10	10	3	0.41343
11	11	3	0.40128
12	12	3	0.39293
13	13	4	0.40180
14	14	4	0.39883
15	15	4	0.39730
16	16	4	0.38263

MASA DE HUEVO

Obs	trt	block	rpta
1	1	1	60.6335
2	1	2	59.7798
3	1	3	59.9559
4	1	4	50.0691
5	2	1	45.8427
6	2	2	41.5767
7	2	3	61.3895
8	2	4	61.8335
9	3	1	51.3668
10	3	2	59.2151
11	3	3	59.1602
12	3	4	59.1518
13	4	1	60.0247
14	4	2	59.9088
15	4	3	55.3176
16	4	4	53.8851

PESO DE HUEVO

Obs	trt	block	rpta
1	1	1	64.4181
2	1	2	66.6999
3	1	3	66.1582
4	1	4	65.4499
5	2	1	66.6802
6	2	2	60.9182
7	2	3	68.9770
8	2	4	67.1192
9	3	1	63.6122
10	3	2	64.1898
11	3	3	65.2802
12	3	4	68.6813
13	4	1	66.3257
14	4	2	66.9372
15	4	3	70.9200
16	4	4	66.6276

PESO VIVO INICIAL

Obs	trt	block	rpta
1	1	1	1.9975
2	1	2	1.9875
3	1	3	1.9900
4	1	4	1.9850
5	2	1	1.9925
6	2	2	1.9850
7	2	3	1.9800
8	2	4	1.9950
9	3	1	1.9925
10	3	2	1.9750
11	3	3	1.9850
12	3	4	1.9925
13	4	1	1.9975
14	4	2	1.9825
15	4	3	1.9975
16	4	4	1.9875

PRODUCCION DE HUEVO

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	94.125
2	2	1	89.625
3	3	1	90.625
4	4	1	76.500
5	5	2	68.750
6	6	2	68.250
7	7	2	89.000
8	8	2	92.125
9	9	3	80.750
10	10	3	92.250
11	11	3	90.625
12	12	3	86.125
13	13	4	90.500
14	14	4	89.500
15	15	4	78.000
16	16	4	80.875

UNIDAD DE HAUGH

Obs	NUMERO	TRT	RPTA
1	1	1	88.4465
2	2	1	81.6121
3	3	1	79.6369
4	4	1	78.2293
5	5	2	81.7122
6	6	2	84.3630
7	7	2	87.4587
8	8	2	90.4012
9	9	3	86.9616
10	10	3	82.0840
11	11	3	80.4903
12	12	3	85.6933
13	13	4	84.3960
14	14	4	76.8031
15	15	4	87.0883
16	16	4	87.7410

ANEXO III: FOTOGRAFIAS DEL DESARROLLO DEL EXPERIMENTO

FOTO 1: GALPON DE ENSEÑANZA LA FMV.



FOTO 2: ALIMENTACION DE LAS AVES



FOTO 3: INSUMO A BASE DE ENZIMA FITASA (PHYTEX 500)

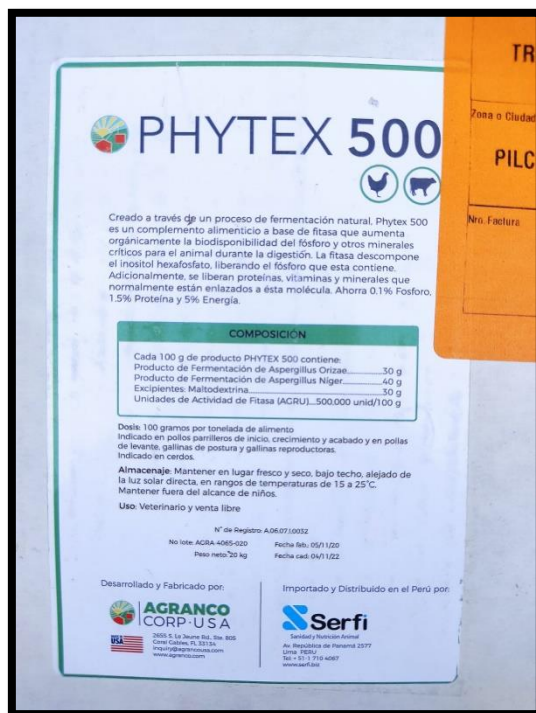


FOTO 4: ESTABLECIMIENTO DE LOS GRUPOS AL AZAR (T1, T2, T3 Y T4)



FOTO 5: PESO DE LAS AVES AL FINAL DEL PROYECTO DE TESIS

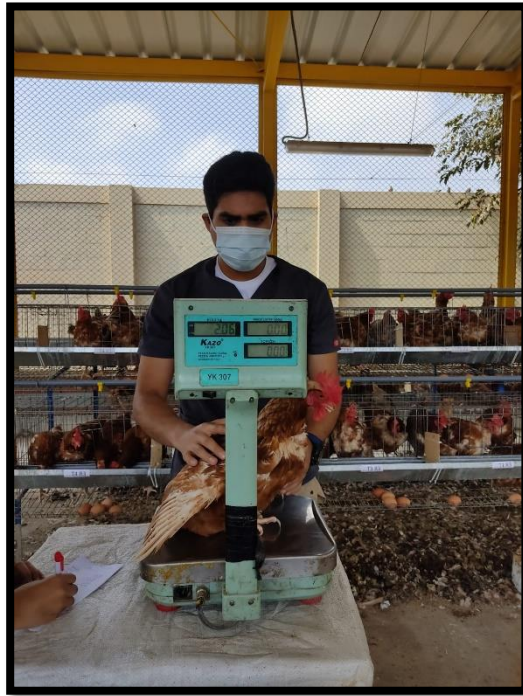


FOTO 6: ELABORACION DE LA DIETA

