AVANCES EN LA VALORACIÓN DEL FÓSFORO EN AVES

Markus Rodehutscord

Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany E-mail: markus.rodehutscord@uni-hohenheim.de

1.- INTRODUCCIÓN

Todos los animales necesitan absorber fósforo en el intestino para cubrir sus necesidades. La cantidad necesaria varía considerablemente y depende de factores ligados al animal, tales como la especie, la edad y el nivel de rendimiento planeado. La concentración de fósforo (P) total en la dieta no solo depende de estos factores sino también de la materias primas utilizadas en la elaboración del pienso, en particular de las fuentes y la forma de los enlaces del P, así como de la presencia de fitasa endógena o añadida.

Evitar deficiencias es el principal objetivo de la optimización de la concentración de P en el pienso, pero otros aspectos son cada vez más relevantes. Por un lado, el P se acumula en el suelo y se lixivia si esa concentración se hace demasiado alta, con consecuencias negativas sobre las aguas superficiales, tales como la eutrofización. Por otra parte, es preciso tener en cuenta que los recursos globales brutos de fosfatos, que son esenciales para la producción de P alimenticio, son limitados. El precio de estos ingredientes se ha incrementado significativamente en los años recientes, lo que puede indicar la existencia de límites en el proceso de producción de P alimenticio. Europa carece prácticamente de depósitos de fosfato. La prohibición del uso de subproductos animales en la alimentación, aunque suavizada con el tiempo, ha conducido a que el P se retire irreversiblemente del ciclo de nutrientes (Rodehutscord et al., 2002a). En

consecuencia, el manejo responsable de las fuentes de P es un aspecto importante de la producción agraria sostenible en general y de la producción ganadera en particular (Gross, 2010).

Cuanto más preciso sea el suministro de P para ajustarse a las necesidades específicas de P disponible, mayor será el conocimiento de la disponibilidad del P de los ingredientes alimenticios. Además, los productos que contengan fitasas necesitan tener un 'valor de reemplazamiento' o equivalencia para una cierta cantidad de P disponible. Mientras que estas afirmaciones dichas de forma general no provocan desacuerdos, existen diferentes definiciones de disponibilidad y diferentes métodos para medirla. Esto conduce a considerable confusión cuando se discute sobre disponibilidad del P y limita la comparación de los datos. Supone también un problema para la recopilación de información cuando se elaboran tablas de valoración de alimentos, que generalmente se basan en la recopilación de datos de diferentes países o laboratorios. Existe pues una gran necesidad de armonizar las aproximaciones y métodos utilizados. En 2009, el Grupo de Trabajo sobre Nutrición de la Federación Europea de la WPSA nombró un subgrupo de expertos cuya misión es desarrollar un protocolo estándar para la determinación de P disponible y modelos simples para la estimación de las necesidades de P disponible en aves. Esto nos lleva a esperar que la mayoría de los problemas presentados en esta introducción se resuelvan a corto plazo y que las industrias europeas de piensos y de avicultura se puedan beneficiar de un sistema común de evaluación en el futuro.

2.- DIFERENCIACIÓN DE LAS FUENTES DE P MEDIANTE ANÁLISIS QUÍMICOS Y DEFINICIÓN DE LA DISPONIBILIDAD DEL P

Es bien conocido que los fitatos son la fuente predominante de P en las materias primas de origen vegetal. Puesto que las aves no producen fitasa endógena en cantidades apreciables, su capacidad de utilizar P fítico es muy limitada. La diferenciación analítica del P fítico dentro del P total y el cálculo de la fracción de P no-fítico (NPP) implementada por los comités del NRC (1994) y GfE (1999) supuso, por tanto, una mejora sustancial en la precisión de la valoración del P para aves con respecto al uso del P total. Implicaba los supuestos de que el P fítico es completamente indigestible y que la fracción NPP es disponible en una proporción constante de un 70%, independientemente de cuál sea la fuente utilizada. Mientras tanto, algunos estudios han demostrado que ambos supuestos son sólo aproximaciones groseras. El P fítico puede utilizarse en una cierta extensión, por ejemplo si los ingredientes contienen fítasa de forma intrínseca (Oloffs et al., 2000). Incluso en dietas maíz-soja sin suplementar con fuentes minerales la utilización del P es superior a un 50%. Además, la utilización del NPP no es constante sino que depende de la

fuente de P utilizada (e.g. De Groote y Huyghebaert, 1997; Rama Rao y Ramasubba Reddy, 2001; Wendt y Rodehutscord, 2004). La conclusión es que P disponible y NPP no pueden identificarse, aunque en la literatura a menudo se usan de forma sinónima. Disponer de una definición consensuada de disponibilidad del P es por tanto un primer paso hacia un sistema común de P disponible para aves. En un Simposium anterior, el autor sugirió considerar como P disponible la proporción del P total que, a niveles marginales de aporte de P, puede utilizarse para cubrir las necesidades del animal (Rodehutscord 2009). Este es un criterio de calidad y describe el valor potencial de un pienso o de una materia prima. Esta definición *per se* no está relacionada con ningún método específico de determinación.

3.- DIFERENCIACIÓN ENTRE FUENTES DE P A PARTIR DE ENSAYOS REALIZADOS CON ANIMALES

La determinación de la disponibilidad del P requiere realizar ensayos con animales. Aproximaciones precisas realizadas *in vitro* pueden implementarse en el futuro para determinar la disponibilidad del P, pero su desarrollo y validación también dependen de ensayos *in vivo*.

Actualmente se están utilizando diferentes metodologías para ensayos *in vivo*. Independientemente de la metodología utilizada, es muy importante que los niveles de P en las dietas estén por debajo de las necesidades de los animales. La ingestión de un exceso de P implica que el animal lo excrete en una mayor proporción, lo que no tiene que ver con la calidad de la fuente de P testada. Por esta razón, el sistema alemán de valoración del P para ganado porcino sigue desde hace muchos años un estricto protocolo con limitaciones del suministro de P (GfE, 1994). El ajuste del nivel de P en el pienso necesita especial atención, porque la concentración de P disponible requerida en pollos en crecimiento disminuye continuamente con la edad de las aves. El 'límite tolerable superior' del P en estudios de disponibilidad no es por tanto constante, sino que depende de la especie y de la edad siendo más bajo a medida que aumenta la edad de las aves.

En los estudios de disponibilidad, la fuente de P estudiada se añade generalmente a una dieta pobre en P. Las materias primas deben escogerse de forma que el consumo de pienso sea suficientemente elevado y el de P disponible suficientemente bajo para permitir el uso de más de un nivel de suplementación. Deben evitarse interacciones entre la ración basal y la fuente de P estudiada utilizando las materias primas adecuadas. La disponibilidad de la fuente de P testada puede calcularse por diferencia o por regresión lineal. Muy a menudo se usan dietas basadas en maíz-soja (Kornegay et al., 1996; Potter et

al., 1995). La disponibilidad del P en estos ingredientes es baja con niveles bajos de fitasa endógena. Una reducción adicional del nivel de P en la ración basal puede conseguirse utilizando fuentes alternativas de energía (e.g. almidón) y proteína (e.g. proteína de patata, albúmina de huevo) con bajo contenido en P o aminoácidos cristalinos (Dänner y Bessei, 2002b; Rodehutscord y Dieckmann, 2005). Esto aumenta los costes experimentales, pero resulta necesario en ensayos que usen aves con bajas necesidades de P.

3.1.- Determinación cuantitativa de la retención de P

Los estudios que miden retención de P pueden usarse para estimar su disponibilidad. Una forma de medir la retención es mediante ensayos de balance donde se cuantifican el consumo y la excreción de P durante un cierto periodo de tiempo, generalmente no inferior a cinco días. Antes de comenzar el periodo de recogida, se establece un periodo de adaptación de al menos otros cinco días (Dänner y Bessei, 2002a) para permitir a las aves ajustar la excreción de P a su respectivo nivel de consumo. La retención de P se calcula por diferencia entre ingestión y excreción, a lo que Leske y Coon (2002) denominaron 'P retenible'. A veces se denomina también 'P digestible', lo que es menos preciso. Un sistema basado en esta aproximación, incluyendo valores de necesidades sobre la base de P retenible, fue introducido en Holanda hace 10 años y viene empleándose desde entonces (van der Klis y Kwakernaak, 2008).

Alternativamente, las fuentes de P pueden utilizarse a diferentes niveles de inclusión y los valores de disponibilidad calcularse por regresión, lo que hace innecesaria la corrección por pérdidas endógenas. El esfuerzo experimental que se precisa para cuantificar la excreción es considerable, pero las medidas son muy precisas y pueden interpretarse directamente como disponibilidad del P. Además, el número necesario de animales es relativamente bajo, ya que los mismos animales pueden usarse para medidas repetidas. Si la recogida cuantificada de excreta no es posible, la proporción de P retenida puede medirse mediante el uso de un marcador indigestible (Leske y Coon, 2002), lo que incluye todas las ventajas y desventajas de la técnica de marcadores.

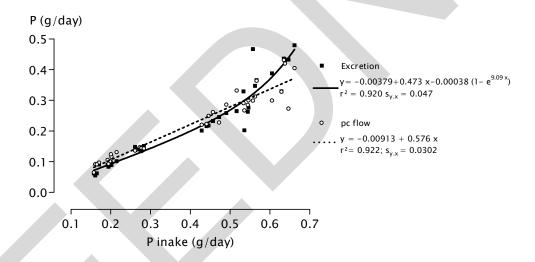
3.2.- Determinación de la digestibilidad pre-cecal

La digestibilidad hasta el final del íleon (digestibilidad pre-cecal, pc) es un método establecido para medir la calidad de la proteína en aves. Su principal ventaja está en que los valores obtenidos no están influidos por la actividad microbiana post-ileal. También implica que la contribución de la orina puede ser excluida. Esto puede suponer ventajas en estudios sobre disponibilidad del P, ya que la excreción urinaria es la principal vía de excreción si el consumo está por encima de las necesidades, pero despreciable cuando se

encuentra por debajo. La sección intestinal que se utiliza para recoger la digesta no debe ser demasiado larga para asegurar que la absorción previa de P ha sido completa (Witzig et al., 2006). Muestras de varios animales (nosotros preferimos utilizar diez de 3 semanas de edad) se mezclan en una única muestra. Esto es necesario para obtener suficiente material para los análisis químicos y para reducir la variación.

Los primeros estudios comparativos en nuestro Laboratorio han mostrado que la digestibilidad pre-cecal puede ser desarrollada como una herramienta alternativa para determinar disponibilidad del P, con la ventaja de ser menos sensible al nivel de P en la dieta. Mientras que la excreción total de P aumenta no-linealmente cuando la ingestión aumenta por encima de las necesidades, el flujo de P en el íleon terminal responde continuamente de forma lineal (ver figura 1).

Figura 1.- Efecto de la suplementación con MCP sobre la excreción total y el flujo pre-cecal (pc) de P en pollos de 3 semanas de edad (datos no publicados)



Los estudios sobre mecanismos de transporte en gallinas ponedoras han puesto en evidencia que una adaptación de los tejidos intestinales en la absorción o excreción endógena es poco relevante, mientras que el riñón es el principal órgano regulatorio (Huber et al., 2006). Esta hipótesis requiere todavía de investigación adicional para el caso de aves en crecimiento. Recientemente pudimos mostrar que las determinaciones basadas en P retenido y digestibilidad pre-cecal del P dieron lugar a estimaciones similares de la disponibilidad del P de diversas fuentes minerales de la dieta (Shastak et al. 2011a).

En gallinas ponedoras, la concentración de P disponible necesaria en la dieta es muy inferior a la de pollos en crecimiento. Esto hace más difícil estudiar la disponibilidad en gallinas sobre la base de excreción total. En este caso la determinaciones de

digestibilidad pre-cecal son más adecuadas (van der Klis et al., 1997; Rodehutscord et al., 2002b).

3.3.- Determinación de la retención de P en huesos

Aproximadamente un 80% del P se retiene en los huesos. Como consecuencia, los datos óseos son ampliamente utilizados como indicadores de la disponibilidad del P. En aves, la tibia y dedos de los pies son usados a menudo con este propósito. Los huesos se analizan en cuanto a su contenido en cenizas, y a veces también por su concentración en P y Ca. Criterios indirectos tales como resistencia a la rotura, densidad, etc. son también utilizados.

Los experimentos se realizan generalmente con diferentes suplementos, incluyendo un suplemento de referencia (e.g. fosfato sódico). Los huesos muestran una respuesta específica a cada fuente de P suplementaria. En el caso más simple la respuesta puede describirse por una regresión lineal y la comparación de las fuentes se hace por un test de pendientes (Hurwitz, 1964; Lima et al., 1997; Potter et al., 1995), a veces denominada disponibilidad relativa. El resultado de un experimento depende, por tanto, de la calidad de la fuente de referencia. Otros detalles de los procedimientos experimentales, particularmente la duración del estudio, son también relevantes. Los pollitos jóvenes responden de manera muy sensible al cabo de pocos días. Las aves de mayor edad tienen ya parcialmente desarrollado el esqueleto, lo que implica una mayor lentitud en la respuesta en las determinaciones realizadas sobre huesos.

Aunque los huesos pueden mostrar diferencias en la respuesta a diferentes fuentes de P, no pueden utilizarse directamente como medida de la disponibilidad del P. Recientemente hemos intentado comparar los resultados de determinaciones en huesos con los de estudios de retención a través de un meta-análisis de datos de la literatura. Las correlaciones entre respuestas obtenidas a partir del contenido en cenizas en dedos del pie y tibia, e incluso de su crecimiento, con las respuestas en P retenido fueron significativas (ver cuadro 1), pero fueron bajas y no indicaron la existencia de una relación suficientemente elevada para recalcular la disponibilidad del P a partir de los datos obtenidos en huesos. Sin embargo, la variación en las respuestas entre estudios individuales fue muy elevada. Se requieren nuevos trabajos para combinar diferentes aproximaciones en un solo estudio y comparar las respuestas de los animales.

Cuadro 1.- Correlaciones entre respuestas en P retenido (basadas en ensayos de balance) y respuestas en huesos en estudios que utilizaban suplementación con fitasas o fuentes de P mineral (meta-análisis no publicado)

	Δ cenizas dedos del pie	Δ cenizas tibia	Δ peso vivo
Δ retención P	0,44***	0,73*	0,19*
Δ cenizas dedos pie	-	0,73**	0,34***

^{***}P<0,001; **P<0,05; *P<0,10.

Otro aspecto a considerar en este contexto es en qué medida el contenido en P de huesos individuales es representativo del contenido total de P corporal. Si la correlación fuese suficientemente estrecha, los datos óseos serían adecuados para estimar el P del conjunto del cuerpo. Hurwitz (1964) observó que la relación entre el P de la tibia y el del conjunto del cuerpo es de 1 a 19,6, pero no explicaron con detalle el origen de la relación. Shastak et al. (2011b) encontraron que incrementos en el P de la tibia de 1 mg se correspondían con incrementos en el P corporal de 17,7 mg cuando se suplementaban dietas con un bajo contenido en P. Esto indica que los cambios en el contenido en P de la tibia pueden ser adecuados para predecir cambios en la retención de P corporal.

3.4.- Concentraciones de P en sangre

La concentración de fosfato inorgánico (Pi) en sangre es, en contraste a la de Ca, muy variable. Especialmente por debajo de las necesidades de P, la concentración Pi responde a diferencias en el consumo de P disponible. Hurwitz (1964) suplementó con dos fuentes diferentes de P mineral una ración basal pobre en P y observó una respuesta lineal tanto en P en la tibia como en Pi. La relación de pendientes para los dos suplementos de P fue similar en ambos casos. Sin embargo, no es posible concluir todavía que el nivel de P en sangre pueda ser utilizado para estimar la disponibilidad del P.

4.- ESTUDIOS SOBRE EFICACIA DE FITASAS

Una estandarización en los estudios sobre la eficacia de las fitasas es también necesaria. Los ensayos dosis-respuesta con varios niveles de suplementación son los preferidos, especialmente cuando se usan diferentes fuentes de fitasas. Junto con el nivel de P en la ración basal, las concentraciones de fitasa y de Ca, así como la actividad de las fitasas endógenas son particularmente importantes. El contenido de Ca debe ser suficientemente elevado para no limitar la utilización del P. Por otro lado, el Ca no debería estar en exceso en orden a evitar consecuencias negativas en cuanto a solubilidad de los

fitatos y eficacia de las fitasas. Sin embargo, incluso cuando el protocolo experimental es muy similar, la respuesta de las aves a la suplementación con fitasas (del mismo origen) puede variar considerablemente entre diferentes ensayos (Rodehutscord et al., 2006). Hasta que las razones de esta variación sean explicadas la consecuencia es que las comparaciones entre diferentes productos con actividad fitásica, así como las comparaciones entre fitasas y fuentes de P mineral sólo pueden hacerse bajo condiciones ceteris paribus dentro del mismo experimento.

5.- AVANCES EN LA ESTIMACIÓN DE LAS NECESIDADES EN P DISPONIBLE

La segunda tarea principal para optimizar el manejo del P en el sector avícola es mejorar el modelo de predicción de las necesidades de P disponible. La concentración de P disponible en la dieta para aves en crecimiento depende de las pérdidas inevitables de P, la velocidad de crecimiento, el contenido de P en la ganancia de peso y la conversión alimenticia. Puede modelizarse de manera simple por la siguiente ecuación (Rodehutscord, 2006):

$$aP_{Dieta} = P_{BWG} / FCR + P_{IL}$$

donde:

aP_{Dieta}: Concentración de P disponible en la dieta (g/kg)

P_{BWG}: Concentración de P en la ganancia de peso (g/kg)

P_{IL}: Pérdidas inevitables de P (g/kg pienso ingerido)

FCR: Conversión alimenticia (kg pienso/kg ganancia peso).

Entre los factores de este modelo, la concentración de P en la ganancia de peso es cuantitativamente el más importante, pero puede obtenerse con un esfuerzo razonable a partir del análisis del cuerpo completo del animal. Los efectos de la especie, estirpe, sexo, y de la mejora genética pueden ser también considerados. La información sobre conversión alimenticia y de su variación con el tiempo no es limitante.

Los cálculos a partir de este modelo muestran que la posibilidad de ahorro de P es mayor en la fase final de crecimiento. Por ejemplo, en pavos, las concentraciones de P en las dietas en las semanas 10-13, 14-17 y 18-22 se redujeron a 5,9; 5,4 y 4,4 g/kg (sin fitasa suplementaria) y a 4,9; 4,4 y 3,5 g/kg (con suplemento de fitasa) sin consecuencias sobre el crecimiento, la conversión alimenticia o el contenido en P en la tibia (Rodehutscord et al., 2003).

6.- CONCLUSIONES

Existe potencial para optimizar el uso de las fuentes de P en el sector avícola. Es necesario un consenso acerca de cómo medir más adecuadamente la disponibilidad del P, y un protocolo estándar estará pronto disponible. Las Tablas de valoración de alimentos podrán entonces compilar estos valores, incluyendo su variación. Los productos con actividad fitásica necesitan ser también evaluados sobre la base de un protocolo estándar. Finalmente, se precisan desarrollar modelos para una estimación simple y flexible de las necesidades de P disponible. La comunidad científica tiene capacidad y está preparada para hacer este trabajo, pero es necesario un apoyo sustancial por parte de la industria avícola y de piensos compuestos.

7.- REFERENCIAS

- DÄNNER, E. y BESSEI, W. (2002a) *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 11, 50 [abstr.].
- DÄNNER, E. y BESSEI, W. (2002b) Entwicklung einer Grundration zur Durchführung von Phosphor-Differenzversuchen beim wachsenden Geflügel. *Archiv für Geflügelkunde* 66: 46-48.
- DE GROOTE, G. y HUYGHEBAERT, G. (1997) Animal Feed Science and Technology 69, 329-340.
- DIECKMANN, A. (2004) Beiträge zur Optimierung der Phosphorversorgung von wachsenden Broilern. Doctoral thesis, Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), Germany.
- GFE (1994) Proceedings of the Society of Nutrition Physiology 2, 113-119.
- GFE (1999) Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. 7. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Legehennen und Masthühner (Broiler). DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany.
- GROSS, M. (2010) Current Biology 20, R386.
- HUBER, K., HEMPEL, R. y RODEHUTSCORD, M. (2006) Poultry Science 85, 1980-1986.
- HURWITZ, S. (1964) Journal of Nutrition 84, 83-92.
- KORNEGAY, E.T., DENBOW, D.M., YI, Z. y RAVINDRAN, V. (1996) *British Journal of Nutrition* 75, 839-852.
- LESKE, K. y COON, C. (2002) Poultry Science 81, 1681-1693.
- LIMA, F.R., MENDONCA, C.X., ALVAREZ, J.C., GARZILLO, J.M.F., GHION, E. y LEAL, P.M. (1997) *Poultry Science* 76, 1707-1713.
- NRC. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. National Academy Press, Washington, D.C.

OLOFFS, K., COSSA, J. y JEROCH, H. (2000) Archiv für Geflügelkunde 64, 157-161.

- POTTER, L.M., POTCHANAKORN, M., RAVINDRAN, V. y KORNEGAY, E.T. (1995) Poultry Science 74, 813-820.
- RAMA RAO, S.V. y RAMASUBBA REDDY, V. (2001) Asian-Australasian Journal of Animal Science 14, 979-985.
- RODEHUTSCORD, M. (2006) World's Poultry Science Journal 62, 513-523.
- RODEHUTSCORD, M. (2009) In: WPSA UK-branch (ed.) Proc. 17th European Symposium on Poultry Nutrition, Edinburgh, UK, pp. 2-6.
- RODEHUTSCORD, M., ABEL, H., FRIEDT, W., WENK, C., FLACHOWSKY, G., AHLGRIMM, H.-J., JOHNKE, B., KÜHL, R. y BREVES, G. (2002a) *Archives of Animal Nutrition* 56, 67-91.
- RODEHUTSCORD, M. y DIECKMANN, A. (2005) Poultry Science 84, 1252-1260.
- RODEHUTSCORD, M., HEMPEL, R. y WENDT, P. (2006) British Poultry Science 47, 311-321.
- RODEHUTSCORD, M., SANVER, F. y TIMMLER, R. (2002b) Archives of Animal Nutrition 56, 189-198.
- RODEHUTSCORD, M., WENDT, P. y STROBEL, E. (2003) *British Poultry Science* 44, 591-597.
- SHASTAK, Y., WITZIG, M. y RODEHUTSCORD, M. (2011a) In: *Proc.* 18th European Symposium on Poultry Nutrition, Cesme, Izmir, Turkey.
- SHASTAK, Y., WITZIG, M. y RODEHUTSCORD, M. (2011b) In: *Proc.* 18th European Symposium on Poultry Nutrition, Cesme, Izmir, Turkey.
- VAN DER KLIS, J.D. y KWAKERNAAK, C. (2008) In: Proc. WPSA World Congress, Brisbane.
- VAN DER KLIS, J.D., VERSTEEGH, H.A.J., SIMONS, P.C.M. y KIES, A.K. (1997) *Poultry Science* 76, 1535-1542.
- WENDT, P. y RODEHUTSCORD, M. (2004) Poultry Science 83, 1572-1579.
- WITZIG, M., DIECKMANN, A. y RODEHUTSCORD, M. (2006) Proceedings of the Society of Nutrition Physiology 15, 165 [abs...