

EFECTO DE LA FITASA EN EL APROVECHAMIENTO DEL FÓSFORO EN DIETAS PARA TILAPIA (*Oreochromis niloticus*). RESULTADOS PRELIMINARES

Jorge Günther¹, Ricardo Jiménez¹ y William Vargas²

¹Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia

²Aquacorporación S.A., Cañas, Guanacaste

RESUMEN

Con el fin de evaluar si mediante la adición de la enzima fitasa se puede aumentar la cantidad de fósforo (P) disponible en dietas comerciales de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y con ello reducir su excreción al medio, se realizó un ensayo de laboratorio con dos niveles de P disponible (alto 0,8% y bajo 0,5%) y dos niveles de adición de fitasa a la dieta de bajo fósforo (600 y 1.200 FTU¹). Con la adición de 1.200 FTU fitasa se logró superar en crecimiento y aprovechamiento del alimento la dieta de alto fósforo sin fitasa, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos. Por otra parte, la eliminación de P en el agua y en las heces se redujo significativamente con la inclusión de fitasa en el alimento. Se discuten las ventajas que puede aportar la inclusión de la fitasa en diversos aspectos del cultivo intensivo.

ABSTRACT

The aim of this study was to test if the inclusion of bacterial phytase in tilapia diets would reduce the requirement of dietary phosphorous for tilapia (*Oreochromis niloticus*). Four diets (0.8% P, 0.5% P, 0.5% P with 600 FTU phytase and 0.5% P with 1,200 FTU phytase) were tested in a 6 week experiment with juvenile *Oreochromis niloticus*. Inclusion of phytase improved growth and feed conversion, and with 1,200 FTU phytase growth

and feed conversion were even superior to the diet with high phosphorous, but the results were statistically not significant. Excretion of phosphorous into the water and the faeces were significantly reduced through phytase inclusion. The advantages of phytase inclusion for various aspects of intensive fish culture are discussed.

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de las harinas de origen vegetal, hasta un 70% del fósforo (P) aparece ligado al ácido fítico, y no está disponible directamente para la absorción en el tubo digestivo. Además, en los medios ácido y alcalino propios del proceso de la digestión, el ácido fítico puede formar complejos con aminoácidos, proteínas y cationes divalentes dificultando su absorción (FORSTER *et al.* 1999). En los animales con fermentación bacteriana importante (ej. rumiantes) las bacterias degradan el ácido fítico por medio de la enzima fitasa, liberando las moléculas secuestradas y mejorando la digestibilidad del P. Los animales monogástricos (entre ellos, los peces) no disponen de fitasa endógena ni bacteriana, por lo que el aprovechamiento del P es bajo, especialmente el que contienen las harinas vegetales (RICHE y BROWN 1996).

Esta baja digestibilidad del P tiene consecuencias negativas de varias índoles:

1. FTU: cantidad de enzima que libera un micromol de P inorgánico por minuto de 0,0051 mol/L de fitato sódico a pH 5,5 y 37 °C.

1. Aumenta los costos de la alimentación, ya que se requieren suplementos minerales.

2. Reduce la digestibilidad de algunas proteínas y minerales, afectando el crecimiento.
3. Se traduce en una mayor excreción del P no digerido, contaminando las aguas servidas con el elemento que más contribuye a la eutroficación de los cuerpos de agua dulce.

En los últimos años se ha logrado la producción masiva de la enzima fitasa por medio de procesos de fermentación industrial y su posterior aplicación mediante nebulización lipídica al alimento granulado después del proceso de peletización, con lo que se mantiene la actividad de la enzima (AICHER 1999). Al incluirla como aditivo en dietas de monogástricos, como pollos de engorde, gallinas ponedoras y cerdos, se ha logrado aumentar la digestibilidad del P entre un 50 y un 65% con concentraciones de fitasa hasta de 1.000 FTU/kg dieta (ANÓNIMO 2000, FTU: unidad de actividad de la fitasa). En dietas para peces (truchas, FORSTER *et al.* 1999 y VIELMA *et al.* 2000, *Ictalurus*, SCOTT-JACKSON *et al.* 1996, LI y ROBINSON 1997, *Dicentrarchus*, OLIVA-TELES *et al.* 1997 y carpa común, SCHAEFER *et al.* 1995) y con niveles de fitasa hasta de 4.000 FTU/kg dieta, se ha mostrado repetidamente que la adición de fitasa aumenta la disponibilidad del P vegetal y reduce el P fecal, a menudo con efectos positivos sobre el crecimiento y la utilización del alimento.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fitasa en la utilización del P por parte de la tilapia nilótica, *Oreochromis niloticus*, comparando una dieta comercial control de 0,8% P/kg con tres dietas de P reducido (0,5%) sin y con dos niveles de fitasa (600 y 1.200 FTU/kg dieta).

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces. Para el experimento se usaron peces monosexo (machos) de la especie *Oreochromis niloticus*, suministrados por la compañía Aquacorporación S.A., con un peso promedio inicial de 15,2 g (máx. 22,0 g, mín. 11,3 g) y un coeficiente de variación de 15,2%, distribuyéndose al azar 5 peces por pecera.

Diseño experimental. Se compararon 4 dietas en un experimento de 4 tratamientos con 4 repeticiones cada uno.

- Trat. 1. Dieta con 0,8% P
 Trat. 2. Dieta con 0,5% P
 Trat. 3. Dieta con 0,5% P, 600 FTU fitasa
 Trat. 4. Dieta con 0,5% P y 1.200 FTU fitasa

Los 4 tratamientos se distribuyeron al azar entre las 16 peceras de la unidad experimental.

Dietas. Las dietas fueron suministradas por la compañía Aquacorporación S.A. Se formularon con la misma cantidad de proteína cruda (35%), dos niveles de P disponible (0,8 y 0,5%) y tres niveles de fitasa para pollos (0, 600 y 1.200 FTU, cuadro 1).

Fitasa. Se utilizó fitasa microbiana para pollos de la compañía BASF (Natuphos) aplicada en "spray" lipídico al alimento granulado en dos concentraciones de 600 y 1.200 FTU/kg dieta.

Raciones y alimentación. Para cada pecera se calcularon raciones diarias por períodos de 14 días, que se reajustaban luego de cada muestreo quincenal. Para el cálculo de las raciones se usó un coeficiente de crecimiento G de 0,4 (IWAMA y TAUTZ 1981) y un factor de conversión de 1,2. Estos valores se obtuvieron rebajando en un 20% las raciones de alimentación que utiliza la empresa Aquacorporación S.A., con el fin de que la tasa de alimentación fuera ligeramente restringida. Se alimentó de lunes a viernes, 4 veces al día, 8 a.m., 11 a.m., 2 p.m. y 5 p.m., los fines de semana 2 veces diarias, 9 a.m. y 2 p.m.

Unidad experimental y manejo. Se utilizó una batería de 16 peceras con 45 L de capacidad cada una, conectadas a un sistema recirculado común, con aireación, control de temperatura y filtro biológico. El flujo de agua en cada pecera se mantuvo alrededor de 4 L/minuto. La batería recibía un flujo de agua de cañería fresca correspondiente a aproximadamente 150% de recambio diario. La temperatura y el oxígeno disuelto se midieron dos veces al día (8 a.m. y 5 p.m.), el nitrato se midió ocasionalmente, en el agua efluente de las peceras. El cuadro 2 muestra los valores observados durante el experimento.

Las peceras se limpiaron diariamente, mediante sifoneo antes de la primera alimentación. Los peces se pesaron de forma individual en el

Cuadro 1.
Composición por ingredientes de las dietas experimentales en porcentaje.

Ingrediente	Dieta 80	Dieta 50	Dieta 51	Dieta 52
	0,8% P sin fitasa	0,5% P sin fitasa	0,5% P 600 FTU fitasa	0,5% P 1.200 FTU fitasa
Harina de soya (48% prot.)	48,480	48,220	48,220	48,220
Acemite de trigo	30,000	30,000	30,000	30,000
Harina pescado (50% prot.)	12,000	12,000	12,000	12,000
Maíz	6,908	8,607	8,607	8,592
Fosfato monodivaleante	1,395	-	-	-
Aceite de soya	0,702	0,653	0,653	0,653
Vitamin premix tilapias	0,200	0,200	0,200	0,200
DL metionina	0,182	0,182	0,182	0,182
Stay C	0,080	0,080	0,080	0,080
Cloruro de colina	0,050	0,050	0,050	0,050
Fitasa para pollos	-	-	0,012	0,024

Cuadro 2.
Calidad de agua en el experimento.

	Temperatura		Oxígeno		Nitrito, ppm
	°C		disuelto		
	a.m.	p.m.	a.m.	p.m.	p.m.
Promedio	28,4	29,0	5,9	5,5	
Máximo	29,8	30,6	6,7	6,3	0,25
Mínimo	26,4	26,4	5,0	4,3	

inicio y luego cada 14 días en 3 períodos de 2 semanas, con el fin de reajustar la ración alimenticia. El experimento tuvo una duración de 42 días.

Determinación del fósforo en el agua.

Para comparar el fósforo eliminado en el agua en los diversos tratamientos, se tomaron todas las semanas muestras de agua de 2 peceras de cada tratamiento, escogidas al azar. La muestra de agua se tomó luego de interrumpir el flujo de agua por 2 horas (11 a.m.-1 p.m.), y fue inmediatamente filtrada a través de una membrana de 0,45 µm para remover la materia particulada. El ortofosfato disuelto en el filtrado fue medido mediante el método del ácido ascórbico (APHA 1989).

Determinación del fósforo en heces. Para analizar el P en las heces, se recogieron en las semanas 1, 5 y 6 las heces fecales acumuladas en el fondo del acuario a las 5 p.m., en 2 peceras escogidas al azar por cada tratamiento. Las varias formas de fósforo presentes en la muestra fueron hidrolizadas a ortofosfato con la utilización de calor y persulfato de potasio en medio ácido, y el ortofosfato fue luego medido mediante el método del ácido ascórbico (APHA 1989).

Análisis de datos. El crecimiento se midió como tasa de crecimiento específico (TCE):

$$TCE = (e^g - 1) \times 100 \text{ (\% peso corporal/día)}$$

en donde

$$g = \frac{\ln Pf - \ln Pi}{t}$$

y
Pf = peso promedio final
Pi = peso promedio inicial
t = tiempo (días)

La utilización del alimento se midió como factor de conversión (FC):

$$FC = \frac{\text{Alimento entregado (seco)}}{\text{Crecimiento}}$$

Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANDEVA simple, con una probabilidad de error $P \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento y utilización del alimento.

Las condiciones fisicoquímicas durante el experimento fueron adecuadas para el crecimiento de la tilapia, manteniéndose cerca de los valores óptimos para esta especie.

El aumento del coeficiente de variación durante el experimento fue inesperado y refleja la considerable competencia que se desarrolló entre los peces de la misma pecera (cuadro 3). En muchas peceras pudo observarse que un pez dominante arrinconaba a los otros, dificultándoles el acceso al alimento, lo que se tradujo en crecimiento diferencial y aumento del CV (GÜNTHER 1997). A pesar de esta situación, la mortalidad fue baja, afectando solo 2 peceras (1 y 3 peces muertos, respectivamente).

Pese a que las diferencias no fueron significativas, los peces crecieron en promedio mejor con 0,8% de P en la dieta que con 0,5%. La adición de fitasa en la dieta con P reducido (0,5% P y 1.200 UI de fitasa) superó el crecimiento obtenido con la dieta con 0,8% P (figura 1A y cuadro 3).

Con el fin de eliminar en parte la distorsión producida por la competencia (aumento de la variabilidad) se procedió a comparar el crecimiento del pez más grande de cada pecera, ya que, por lo general, este es el pez dominante que come sin restricciones (figura 1B). Si se toman los valores para el pez más grande de cada pecera (cuadro 3, TEC máx.), la tendencia es todavía más marcada y se obtiene un crecimiento más alto en los tratamientos con fitasa que en los tratamientos sin fitasa. Se confirma aquí que el crecimiento con 0,8% P es superior al de 0,5%, siendo ambos superados por los dos tratamientos con 0,5% P e inclusión de fitasa en ambas concentraciones. Sin embargo, las diferencias en los crecimientos máximos tampoco fueron significativas.

El factor de conversión fue mejor en los tratamientos 0,8% P y 0,5% P 1.200 fitasa que en los otros dos, aunque sin diferencia significativa (figura 1 y cuadro 3).

Determinación del fósforo en el agua. La concentración del P total en el agua del sistema recirculado aumentó marcadamente en las 6 semanas del experimento (figura 2), subiendo de esta forma la concentración base del P en el sistema. Al no disponerse de la concentración inicial de P antes de cada período de acumulación de 2 horas, y con el fin de poder comparar los datos de P disuelto entre los tratamientos y entre las 6 semanas de experimento, se procedió a relativizarlos igualando para cada semana a 100 el dato más alto y recalculando los otros en función de este, tomándose para

Cuadro 3.
Crecimiento, utilización del alimento y eliminación del fósforo.

	Pi	CVi	Pf	CVf	TEC med.	FC	TEC máx.	Fósforo en agua	Fósforo en heces
Dieta 0,8	15,9 ^a	16,9 ^a	55,9 ^a	26,4 ^a	2,97 ^a	1,67 ^a	3,07 ^a	94,6 ^a	24,0 ^a
Dieta 0,5	15,2 ^a	13,4 ^a	52,1 ^a	21,9 ^a	2,87 ^a	1,79 ^a	2,89 ^a	92,2 ^{ab}	21,7 ^a
Dieta 0,5-600	15,1 ^a	16,1 ^a	51,6 ^a	28,2 ^a	2,89 ^a	1,80 ^a	3,26 ^a	88,1 ^{ab}	15,2 ^b
Dieta 0,5-1.200	14,5 ^a	15,7 ^a	52,4 ^a	29,1 ^a	3,05 ^a	1,65 ^a	3,42 ^a	84,9 ^b	13,9 ^b

P peso, CV coeficiente de variación, i, f inicial y final, TEC med. tasa de crecimiento específico promedio, TEC máx. tasa de crecimiento específico máximo, FC factor de conversión. Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes estadísticamente ($P \geq 0,05$).

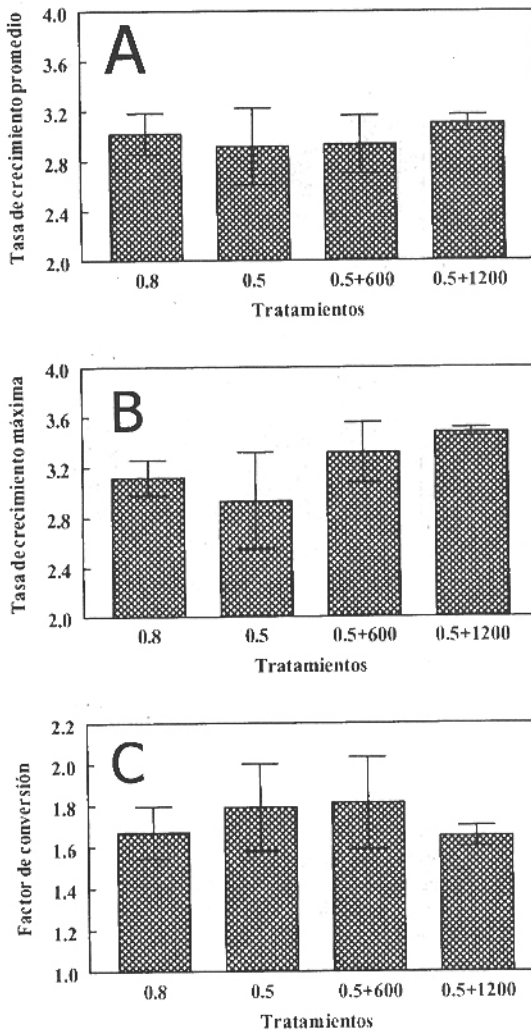


Figura 1. A: tasas de crecimiento específico promedio, **B:** tasas de crecimiento específico máximo (peces más grandes de cada pecera), y **C:** factores de conversión en cada tratamiento, con límites de confianza del 95%.

cada tratamiento el promedio de los 6 muestreos del experimento (figura 3). La acumulación del P en el agua fue significativamente menor en los dos tratamientos con fitasa que sin ella. También fue menor en el tratamiento con alta fitasa (1.200 FTU) que en el de baja fitasa (600 FTU), pero sin diferencia significativa. Los datos indican que la acumulación de P en el agua disminuye progresivamente en la secuencia 0,8%, 0,5%, 0,5% con 600 y 0,5% con

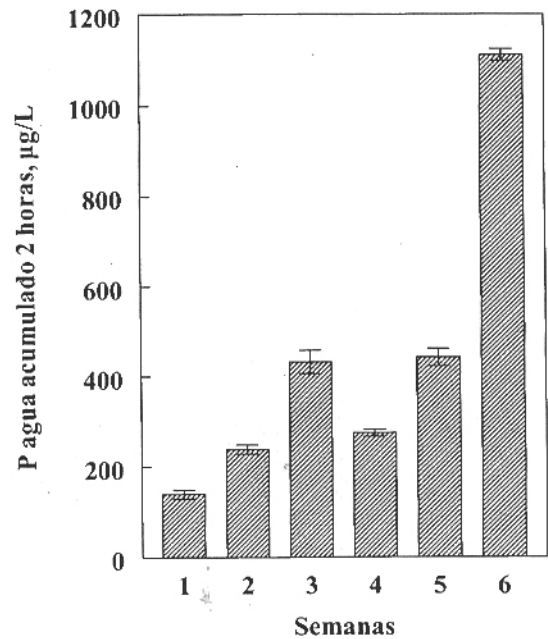


Figura 2. Aumento del P disuelto en el sistema recirculado durante las 6 semanas del experimento. Límites de confianza al 95%.

1.200 FTU de fitasa, siendo la diferencia entre los dos extremos (aproximadamente un 10% de reducción) significativa. La acumulación de P disuelto se debe sobre todo a la excreción de P en la orina, pero no se puede excluir algún grado de contaminación por el fósforo fecal (BUREAU y CHO 1999).

Eliminación de fósforo en las heces. La concentración del P en las heces fue un 40% menor en los peces alimentados con fitasa que en las dietas sin ella, con una diferencia altamente significativa. El efecto fue mayor con la concentración de fitasa más alta, aunque la diferencia no fue significativa entre los dos tratamientos con fitasa. Este efecto también se ha obtenido en otras especies. En *Ictalurus* LI y ROBINSON (1997) obtuvieron, reducciones de 65, 62 y 85% con concentraciones de 250, 500 y 750 FTU, respectivamente. Debido a los problemas de la lixiviación de las heces en el agua, será necesario usar métodos más rápidos para recoger las heces, como el "stripping" (BUREAU y CHO 1999), para obtener estimaciones cuantitativas más confiables.

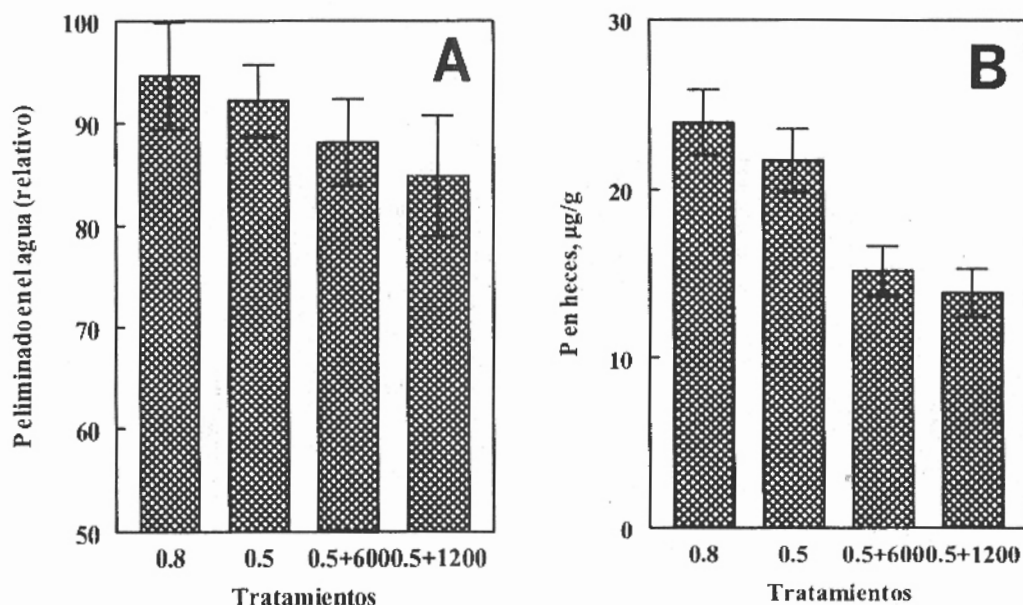


Figura 3. A: cantidades relativas de P acumulado durante 2 horas por tratamiento, B: contenido de P en las heces fecales por tratamiento. Límites de confianza al 95%.

CONCLUSIÓN

La eliminación de P en las heces fecales se reduce casi en un 40% con la inclusión de fitasa (1.200 UI) en la dieta. Lo anterior indica un aumento similar en la digestibilidad del P, con lo que la dieta con 0,5% P se vuelve en la práctica equivalente o incluso superior a la dieta con 0,8%. Los datos de crecimiento no fueron significativos debido a la alta variabilidad que se generó en el experimento, pero todo apunta a que, al menos con 0,5% P y 1.200 UI de fitasa, el crecimiento y el factor de conversión serán superiores a los que se obtienen con la dieta de alto fósforo (0,8%). Un mejoramiento del crecimiento con una simultánea reducción del contaminante P en los efluentes de los estanques son resultados altamente prometedores en el cultivo comercial de tilapia.

REFERENCIAS

- Aicher, E. 1999. Post pelleting liquid systems for enzymes. In: Proceedings of the BASF Technical Symposium: "Use of Natuphos phytase in broiler nutrition and waste management", Atlanta, Georgia.
- Anónimo. 2000. Natuphos phytase: Validation of phosphorous, amino acids and energy matrix values in poultry and swine. BASF Technical Symposium DC001, Serie 2000, 150 pp.
- APHA (American Public Health Association, American Waters Works Association and Water Pollution Control Federation). 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater, 17th edition. American Public Health Association, New York, USA.
- Bureau, D.P. y C.Y. Cho. 1999. Phosphorous utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): estimation of dissolved phosphorous waste output. *Aquaculture* 179: 127-140.
- Forster, I., D.A. Higgs, B.S. Dosanjh, M. Rowshandeli y J. Parr. 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorous output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11 degree C fresh water. *Aquaculture* 179: 109-125.
- Günther, J. 1997. Social effects in growth experiments. Growth of jaguar guapote (*Cichlasoma managuense*) in isolation and in small groups. *Uniciencia* 14: 33-39.

- Iwama, G.K. y A.F. Tautz. 1981. A simple growth model for salmonids in hatcheries. *Canadian J. of Fish. and Aquatic Sciences* 38: 649-656.
- Li, M.H. y E.H. Robinson. 1997. Microbial phytase can replace inorganic phosphorous supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets. *J. World Aquacult. Soc.* 28: 402-406.
- Oliva-Teles, A., J.P. Pereira, A. Gouveia y E. Gomes. 1997. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources* 11: 255-259.
- Riche, M. y P.B. Brown. 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 142: 269-282.
- Schaefer, A., W.M. Koppe, K.H. Meyer-Burgdorff y K.D. Guenther. 1995. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Nutritional strategies and management of aquaculture waste*. Cowey, C.B. (Ed.) 31: 149-155.
- Scott-Jackson, L., M.H. Li y E.H. Robinson. 1996. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. *J. World Aquacult. Soc.* 27: 309-313.
- Vielma, J., T. Makinen, P. Ekholm y J. Koskela. 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus. *Aquaculture* 183: 349-362.