UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MEDELLÍN

Evaluación del empleo de dos fuentes de vitamina D_3 en la dieta de gallinas ponedoras comerciales durante las etapas de levante y finalizando el ciclo productivo

CARLOS AUGUSTO GONZALEZ SEPULVEDA

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de producción animal
Medellín, Colombia
2012

II

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MEDELLÍN

Evaluación del empleo de dos fuentes de vitamina D_3 en la dieta de gallinas ponedoras comerciales durante las etapas de levante y finalizando el ciclo productivo

CARLOS AUGUSTO GONZALEZ SEPULVEDA

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de
Magister en Ciencias Agrarias

Codirectores:
Ph.D. Rolando Barahona Rosales

Línea de Investigación:
Nutrición animal con énfasis en monogástricos

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Producción Animal
Medellín, Colombia

2012

A mi familia

Rosa Elena Zapata Zapata y Felipe González Zapata, mi adorada familia a los que amo con toda mi alma, mi fuente de inspiración por quienes con amor y trabajo me esfuerzo para ser cada día mejor.

A mi madre por todas sus oraciones

Y sobre todo a Dios.

Agradecimientos

Al profesor Ángel María Giraldo por su asesoría y valiosa colaboración durante todo este proceso de formación.

A Javier Chica Peláez, Gloria Restrepo Quijano y Andrés Villa Lenis por su participación en el proyecto, asesoría y colaboración con los análisis de laboratorio.

A la empresa PREMEX S.A por haber puesto su confianza en mí patrocinando el presente proyecto de investigación.

Al profesor Rolando Barahona Rosales mi director de trabajo de grado por todas sus enseñanzas.

A CEAGRO, por facilitarme todas las instalaciones y logística para que este trabajo se realice.

Resumen

Dos ensayos fueron realizados en una granja experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, cuyo objetivo fue comparar el efecto de la suplementación dietaria de dos fuentes de vitamina D_3, 1α-hidroxicolecalciferol (1αOH-D_3,) y 25-hidroxicolecalciferol (25OH-D_3) sobre los indicadores productivos, la composición mineral del hueso y la calidad externa del huevo de gallinas de postura comercial durante los periodos de crecimiento (semana 4 a 16), y finalización de postura (semana 55 a la 68). En el primer experimento, 960 pollitas Lohmann Brown de cuatro semanas de vida fueron alojadas en un diseño completamente al azar en 24 corrales con 40 aves cada uno donde se evaluaron cuatro tratamientos con seis repeticiones que consistieron en: T1: dieta estándar a base de maíz y torta de soya con la adición de 50g por tonelada de fitasa (Natuphos®) considerándose como la dieta control; T2: igual que la dieta control, más la adición de 12.5g por tonelada de alimento de 1αOH-$D_{3,,}$ sin tener en cuenta en la formulación los aportes de calcio y fósforo. T3: igual al grupo control más la adición de 12.5g de 1αOH-$D_{3,}$ considerando una liberación de 0.05% de fósforo disponible y 0.05% de calcio; T4: igual al grupo control más la adición de 5.52g de 25OH-$D_{3,}$ sin incluir en la formulación sus aportes en calcio y fósforo. En el segundo experimento, 360 gallinas Lohmann Brown de 55 semanas de vida fueron distribuidas aleatoriamente en 120 jaulas de tres aves cada una. Se emplearon cuatro tratamientos con seis repeticiones conformadas por cinco jaulas consecutivas. Los tratamientos empleados fueron los mismos del experimento uno con la diferencia de que el 25OH-D_3 fue matrizado dentro de la formulación, teniendo en cuenta sus aportes en calcio y fósforo. Todos los alimentos fueron elaborados siguiendo las recomendaciones nutricionales de las aves en cada una de las etapas fisiológicas. Los resultados indican que las variables productivas durante el periodo de levante: peso promedio, conversión alimenticia, longitud de la canilla y mortalidad, y las variables productivas durante el periodo de producción: porcentaje de postura, conversión acumulada, calidad de huevo, minerales en cáscara, % de cáscara en huevo, densidad de huevos y minerales en huesos no fueron influenciados significativamente ($p>0.05$) por la fuente ni el tipo de inclusión de la vitamina D_3.

Palabra claves: 1 alfa hidroxicolecalciferol, calcio, gallinas ponedoras, 25 hidroxicolecalciferol, mineralización, vitamina D.

Abstract 1

Two trials were conducted in an experimental farm of Universidad Nacional de Cololmbia, whose objective was compare the effect of the dietary supplementation of two sources of vitamin D3, 1α-hydroxycholecalciferol (AlphaD3®) and 25-hydroxycholecalciferol (25OHD3 ®) on the productive parameters, mineral composition of the bone and quality of the eggs of commercial layers, during the following periods growth (weeks 4 to 16), and laying (weeks 55 to 68). In the first experiment, 960 pullets Lohmann Brown brown four week old were randomly distributed in 24 pens wit 40 birds each where four treatments with six repetitions were evaluated: T1: standard diet based on corn soybeans by adding 50 g/ton of phytase (Natuphos®) considered control diet. T2: same as the control diet, plus the addition of 12.5 g/ton 1αOH-D_3 "On Top". T3: same as the control group, plus the addition of 12.5 g/ton 1αOH-D_3, considering a release phosphorus 0.05% and 0.05% calcium. T4: same as T1, plus the addition of 5.52 g/ton 25OH-D_3 not including their input in the formulation of calcium and phosphorus. In the second experiment, 360 Lohmann hens of 55 week old were randomly distributed in 120 cages of three birds each. Four treatments with six replicates were employed made up of five consecutive cages. The treatments used were the same as the experiment one with the difference that 25OH-D_3 ® was matrix in the diet, considering their contributions in calcium and phosphorus. All foods were prepared following the nutritional requirements of birds in each of the physiological stages. The results indicate that the production variables in the rearing period: Average weight, feed conversion, length of the tap, and mortality, and production variables: percentage of laying, accumulative feed conversion, egg quality, minerals shell, % Of shell egg, egg density and bone mineral were not significantly influenced ($p > 0.05$) by source or type of inclusion of vitamin D3.

Keyword: 1 alpha hydroxycholecalciferol, calcium, laying hens, mineralization, 25 hydroxycholecalciferol, vitamin D.

X

CONTENIDO

Resumen VII

Lista de tablas XIII

Lista de Gráficas XV

1. Introducción 1

2. Revisión bibliográfica 5

2.1 Historia de la vitamina D 5

2.2 Biosíntesis de la vitamina D 6

2.3 Función de la vitamina D 7

2.3.1 El calcio y la reproducción aviar 8

2.3.2 Hueso medular 10

2.3.3 Formación ósea y mineralización 11

2.4 Metablismo normal de la vitamina D3 11

2.4.1 Rutas metabólicas de la vitamina D. 14

2.4.2 Metabolismo de la vitamina D y su regulación en las aves 16

2.5 La vitamina D3 como una hormona esteroide 17

2.6 La vitmaina D en gallinas ponedoras 18

2.6.1 La 25-OH-D3 en la fisiología y metabolismo de las aves 19

2.6.2 La 1αOHD3 como fuente de vitamina D para aves 19

2.7 Descripción de la 1α OH-vitamina D3 20

3. Materiales y métodos 23

3.1 Materiales 23

3.1.1 Lugar de trabajo 23

3.1.2 Animales 24

3.2 Método 24

3.2.1 Descripción de los tratamientos. 26

3.2.2 Variables de respuesta del experimento 1 31

3.2.3 Variables de respuesta del experimento 2 33

3.3 Prácticas de manejo.....36

3.4 Diseño experimental y análisis estadístico 38

4. Resultados y discuión 40

4.1 Resultados del experimento período de cría y levante 40

4.1.1 Resultados.....40

4.1.2 Evaluación económica 42

4.2 Resultados del período de producción.....43

5. Discusión……51

5. Conclusiones 55

Referencias ……58

Lista de tablas

Tabla 3-1: Aporte de nutrientes en el alimento de inicio para cada uno de los tratamientos entre la semana 4 a la 6 27

Tabla 3-2: Aporte de nutrientes en el alimento de levante para cada uno de los tratamientos entre la semana 7 a la 16. 28

Tabla 3-3: Composición de las dietas experimentales en la etapa de produccion 28

Tabla 3-4: Composición nutricional de los tratamientos en la etapa de producción..... 29

Tabla 3-5: Premezcla mineral usada en los dos experimentos..... 30

Tabla 3-6: Plan de vacunación aplicado a las pollas durante el levante..... 37

Tabla 4-1: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre el peso corporal promedio (gramos)..... 40

Tabla 4-2: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre el consumo, peso y la conversión acumulada a la semana 16..... 41

Tabla 4-3: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D3 Y 25 OH-D3 sobre la longitud de la canilla 41

Tabla 4-4: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre la concentración de minerales en tibia a la semana 12 de vida 41

Tabla 4-5: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre la concentración de minerales en tibia a la semana 16 de vida..... 42

Tabla 4-6: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D3 Y 25 OH-D3 sobre el costo de alimento para el período de cría y levante……..42

Tabla 4-7: Peso de las aves (g) y porcentaje de postura (%) 43

Tabla 4-8: Conversiones reales vs esperadas en produccion 44

Tabla 4-9: Huevos no vendibles y vendibles con su clasificación en cada tratamiento 45

Tabla 4-10: Concentracion de calcio, fósforo y cenizas en tibias (%) 47

Tabla 4-11: Evaluación económica del costo beneficio de huevo/ave/dia. …….49

Lista de graficas

Grafica 2-1: Vias metabólicas principales de la vitamina D.....12

Grafica 2-2: Ruta metabólica de la vitamina D.....13

Grafica 2- 3: Participacion de la 24 OH asa 15

Grafica 4-1: Variación de la concentración de cenizas en cáscara de huevo en los diferentes tratamientos. 46

Grafica 4-2: Variación de la concentración de calcio en cáscara de huevo en los diferentes tratamientos.....46

Grafica 4-3: Porcentaje de cáscara en huevo.....47

Grafica 4-4: Variación de la densidad de huevo de los diferentes tratamientos...48

1. Introducción

La industria avícola colombiana es tal vez la más dinámica de las actividades del sector colombiano, al pasar en los últimos cinco años la producción de 492 mil a 636 mil toneladas métricas de huevos producidos, garantizando en la actualidad un consumo per cápita de 234 huevos habitante año para el sector de pollo de engorde en el mismo periodo de tiempo la producción pasó de 763 mil a 1.067.000 toneladas métricas, garantizando un consumo de 23,8 kilos de carne de pollo por persona año. Este crecimiento se generó gracias a la productividad del pollo y la gallina frente a otros animales, la eficiencia alimenticia, el éxito de la publicidad de los productos avícolas y a las agremiaciones. Estos aspectos permiten que el costo de producción de pollo o huevo baje en comparación con la de otras carnes no solo en Colombia sino en casi todos los países.

El desempeño de las aves para la producción de huevos, alcanza en nuestro país estándares productivos iguales e incluso superiores a los parámetros zootécnicos por las mismas casas genéticas, cuyas evaluaciones son realizadas en ambientes controlados. Es así como en el último año se produjeron en Colombia 9.749.733.675 unidades de huevos con una mortalidad promedio de 2.5% durante el periodo de levante, e inferior al 5% durante el ciclo completo, además de una producción de 335 huevos por ave alojada según reporta FENAVI-FONAV.

Colombia está en distintas etapas de negociación de Tratados de Libre Comercio con varios países, incluidos los EUA, al igual que con Suiza y Canadá. Existe un tratado pendiente con la Unión Europea y se han hecho exportaciones a Japón y algunos países africanos.

Conocedores de las exigencias que el mercado demanda en calidad y el innegable aumento en la producción, los avicultores colombianos han creado alianzas estratégicas entre varias compañías para aunar esfuerzos y reducir aranceles en las importaciones de materias primas e innovar y

tecnificar el proceso productivo principalmente para la producción de huevos.

Es así como contrario a lo que se plantea en Europa partir de enero del año 2012, en Colombia se han incrementado significativamente los sistemas de producción de alto confinamiento alojando las aves en baterías automatizadas, durante el ciclo de levante y todo el ciclo productivo lo cual redunda en incrementos de altas incidencias de huevos rotos, cáscaras frágiles, deformidades óseas, raquitismo caracterizado por la falta de mineralización de la matriz cartilaginosa epifisiaria y osteoporosis, conocido también como fatiga de jaula y discondroplasia tibial (osteocondrosis), haciendo parte de un conjunto de alteraciones esqueléticas de las aves producidas de forma intensiva y generando alteraciones al bienestar animal. Estas enfermedades han sido asociadas a bajos niveles del metabolito activo de la vitamina D (el 1,25 $(OH)_2$ vitamina D_3) en la circulación sanguínea en el periodo de mayor crecimiento de la tibia.

Incrementar la producción avícola nacional para cumplir con las exigencias cada vez mayores del mercado nacional e internacional, requiere indudablemente aumentar la densidad o el número de aves por metro cuadrado y sobre todo intensificar los sistemas de producción de alto confinamiento como las jaulas o baterías incrementándose los problemas mencionados al igual que pérdidas millonarias por rotura de huevos debido a que la calidad de la cáscara declina con la edad.

Los alimentos de las gallinas se basan principalmente en dietas de maíz y soya y mucho del fósforo que se encuentra presente en las plantas está en forma de un complejo fítico que es relativamente insoluble en el sistema digestivo de los pollos y no está disponible para su utilización (Nelson 1976). El compuesto 1 α OH-D_3 ha sido comprobado que incrementa marcadamente la utilización del fósforo fítico en pollitos mejorando su ganancia de peso y mineralización ósea (Biehl y Baker, 1997a,b; Biehl et al 1995). Sin embargo, esta biomolécula ha sido bien estudiada en pollitos, pero poco en dietas de gallinas ponedoras.

Como consecuencia de lo anterior, con la presente investigación se busca ampliar información científica referente al empleo de metabolitos de la vitamina D como la 1 alfa- Hidroxicolecalciferol y de la 25-hidroxicolecalciferol como un control positivo (ambas moléculas son precursoras de la 25 $(OH)_2$ D_3 que es la forma metabólicamente activa de la vitamina D_3), en gallinas ponedoras en las etapas de cría-levante, y

finalizando su ciclo productivo donde se evaluó la mineralización ósea, los parámetros productivos y la calidad interna y externa del huevo, etapa en la cual se produce el huevo de mayor tamaño y que problemas de fragilidad de cáscara al igual que problemas de fatiga de jaula, son comunes en las granjas avícolas de alto confinamiento; además se determinó el efecto de la inclusión de la 1 alfa- Hidroxicolecalciferol y de la 25 hidroxicolecalciferol en dietas para ponedoras comerciales sobre el costo del alimento balanceado y la rentabilidad del proceso productivo de las gallinas a lo largo de su ciclo productivo.

Objetivo general

Evaluar el efecto sobre el desempeño productivo y la mineralización ósea de la inclusión de la vitamina 1 α OH-D_3- Vs la vitamina 25 OH-D_3 en la dieta de gallinas ponedoras durante las etapas de cría-levante y al final de su ciclo productivo.

Objetivos específicos

- Evaluar la inclusión de la vitamina 1 α OH-D_3 y de la 25 OH-D_3 sobre los parámetros productivos de pollas comerciales durante los periodos de cría-levante y en la etapa final de su ciclo productivo, con y sin valorar los aportes en calcio y fósforo de estas.
- Determinar el impacto económico de la inclusión de la vitamina 1 α OH-D_3 y de la 25 OH-D_3 en el alimento de levante y finalizando el ciclo de producción de gallinas ponedoras comerciales.
- Establecer mediante análisis de laboratorio el efecto de la vitamina 1 α OH-D_3 y de la 25 OH-D_3 sobre la calidad ósea de pollas de reposición y las gallinas finalizando su ciclo productivo.
- Evaluar el efecto de la inclusión 1 α OH-D_3 y de la 25 OH-D_3en dietas para ponedoras comerciales al final del periodo de postura sobre algunos parámetros de calidad interna y externa de los huevos.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 HISTORIA DE LA VITAMINA D

La vitamina antirraquítica fue denominada vitamina D por McCollum en 1925. La vitamina D_3 (colecalciferol) es requerida por las aves para el adecuado metabolismo del calcio y el fósforo y ayuda a la paratohormona a mantener el nivel sanguíneo de calcio necesario para la formación del esqueleto óseo, picos y uñas y la cáscara del huevo (Agudelo, 2008). Mellanby en Inglaterra fue el primero en reconocer formalmente el raquitismo como una enfermedad nutricional, aunque se pensaba que era provocada por una deficiencia de vitamina A. McCollum y colaboradores en 1922 separaron las actividades de la vitamina A del factor antirraquítico introduciendo oxigeno a través de aceite de hígado de bacalao durante varias horas a 120^{o}C. Se comprobó que el aceite resultante que había perdido su actividad para curar la deficiencia de vitamina A, aun poseía actividad antirraquítica. En 1923 dos grupos de investigadores comprobaron que la irradiación de pollos o ratas deficientes o de los alimentos ingeridos por estos animales tenía efecto preventivo y curativo sobre el raquitismo (Scott., et al 1973).

En el libro ALIMENTACION DE LAS AVES, Scott. et al. (1973) reportaron que la vitamina D_2 fue aislada primero en forma cristalizada por Linsert en 1931 y la provitamina de la vitamina D_3 (7-dehidrocolesterol) fue sintetizada por Windaus en 1935. En el texto de igual manera reportaron que el calciferol cristalizado fue obtenido en 1937 por Schenck. La vitamina D es la palabra general aplicada a un número de derivados del esterol liposoluble que son activos en la prevención del raquitismo en animales. Existen distintas formas químicas de la vitamina D; sin embargo solamente una, el calciferol (vitamina D_3) tiene efecto apreciable a la prevención del raquitismo en las gallinas.

Las aves pueden obtener la vitamina D_3 a partir de premezclas vitamínicas y de subproductos de origen animal y también por producción endógena (radiación ultravioleta Atencio *et al*., 2006). Adicionalmente, un precursor de la D_3, la vitamina D_2, (ergocalciferol) se puede obtener de dietas de origen vegetal (Kanis, 1982).

Una unidad internacional (UI) de vitamina D se define como la actividad contenida en 0,025 µg de colecalciferol (Miranda et al., 2009). La vitamina D_3 tiene diversas funciones dentro de la fisiología de las aves, entre éstas se encuentran: mantener el nivel sanguíneo de calcio y fósforo, estimular la absorción intestinal, estimular la reabsorción de los riñones, la incorporación de calcio y fósforo en la matriz ósea, regular el crecimiento y el desarrollo del hueso (Barroeta *et al*. 2002), (Frost *et al*. 1990).

2.2 **BIOSÍNTESIS DE LA VITAMINA D**

La vitamina D es sintetizada en la piel de los animales por la acción de la luz ultravioleta (UV 295-300 nm) en 7-dehidrocolesterol. La activación de esta reacción depende de la absorción de la luz UV en el 5,7-dieno del anillo β del núcleo esterol, causando que se abra e isomerise a la forma más energéticamente estable *s-trans, s-cis*-previtamina D_3 (Gerald, 2008; Negri y Fradinger, 2005).

Esta reacción fisicoquímica aparece para convertir solamente el 5 al 15% del 7-dehidrocolesterol disponible a vitamina D_3. La eficiencia puede estar afectada por las propiedades físicas de la piel y el medio ambiente; además, hay diferencias entre individuos y especies, y se muestra gran variación de acuerdo al día, estación y latitud. El 7-dehidrocolesterol es además un precursor cuyo producto es el colesterol por diferentes vías. Esto es sintetizada en las glándulas sebáceas de la piel, y luego secretada de manera uniforme entre la superficie, donde será reabsorbido dentro de varias capas de la epidermis (Gerald, 2008).

El colecalciferol es producido por irradiación del 7-dehidrocolesterol con luz ultravioleta del sol o de una fuente artificial (Atencio et al., 2006). El colecalciferol es sintetizado en la parte externa de la piel de las gallinas. El 7-dehidrocolesterol es sintetizado en el interior del organismo y es transportado a la superficie de la piel, a través de los folículos de las plumas y raíces de las escamas (Scott et al., 1973).

La vitamina D es conocida como el factor antirraquítico. Se aplica el nombre de vitamina D a dos componentes, el ergocalciferol, o vitamina D_2, y el colecalciferol, o vitamina D_3. (Agudelo. 2008; Maynard, 1981). Para aves solo es efectiva la vitamina D_3, pues estas especies carecen de un

factor enzimático necesario para pasar de la forma pro vitamínica, D_2 al compuesto activo. Las dos formas activas se logran mediante la irradiación ultravioleta de los esteroides, ergosterol y 7-dehidrocolesterol. El ergosterol es de origen vegetal, y el 7-dehidrocolesterol de origen animal (De Luca, 2008).

La vitamina D no es necesaria de usar bajo condiciones de una adecuada irradiación de luz ultravioleta en la piel. Además se ha considerado que más que una vitamina podría considerarse como una pre hormona (Maynard, 1981; Kanis, 1982) ya que es precursor de una hormona renal, la 1,25 Di-Hidroxi-Vitamina D3 [1,25 $(OH)_2$-D_3], que ejerce funciones metabólicas llamadas nucleares y no nucleares (leeson y Summers, 1997). Así mismo otro metabolito de la Vitamina D, la 24,25 Di-Hidroxi-Vitamina D_3 [24,25 $(OH)_2$-D_3], podría ser considerado como otra hormona renal derivada de la vitamina D. (De Luca, 2008; Gerald *et al.,* 2008; Kanis, 1982).

Las gallinas ponedoras que producen huevos con cáscara normal, poseen mayor actividad de la enzima 1-hidroxilasa renal y concentraciones plasmáticas de 1,25 $(OH)_2$-D_3 superiores a las ponedoras que producen huevos sin cáscara. Sin embargo las concentraciones plasmáticas de calcio son similares (Bar et al., 1999). Yoshimura y colaboradores (1997), afirmaron que los receptores de vitamina D están más concentrados en el útero que en otros segmentos del oviducto de ponedoras comerciales en producción. De Luca (1972) y Soares et al. (1995), afirmaron que el metabolito 25$(OH)D_3$ es de 2,5 a 4,5 veces más activo que el colecalciferol, por lo tanto es de gran valor en la prevención de problemas óseos y de grosor de la cáscara de huevos. Posteriormente (Leeson y Summers, 1997) indicaron que el 25$(OH)D_3$, puede ser 200 veces más efectivo que el colecalciferol en la absorción intestinal del calcio. Claro está que la biopotencia va a depender también de la respuesta característica de la medida particular (cenizas de la tibia, fortaleza del hueso, [Ca2+] plasmático, absorción del Ca^{2+}, incidencia de la discondroplasia tibial, etc.).

2.3 FUNCIÓN DE LA VITAMINA D

La vitamina D juega un papel importante con los minerales esenciales de calcio, fósforo y magnesio en el mantenimiento de la salud ósea y dientes. Sin embargo en salud humana en los últimos años se han conocido otras funciones de esta vitamina, como su rol en la respuesta inmune, proliferación y diferenciación celular, función muscular y equilibrio, entre otras (Kanis, 1982). Así niveles séricos de vitamina D que no se traducen

necesariamente en consecuencias óseas, pueden favorecer el desarrollo de enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple y diabetes tipo 1 o riesgo aumentado de cáncer de colon, próstata y mama (Miranda et al., 2009). En adultos mayores la deficiencia puede inducir debilidad de músculos proximales con mayor riesgo de caídas y fracturas (Dhesi *et al*,2002; Pfeifer et al., 2002).

Esta vitamina está involucrada en el mecanismo que balancea el Ca esquelético y sanguíneo. En aves la vitamina D es esencial para mantener la producción de huevos, formación de la cáscara y la homeostasis del calcio (Salvador et al., 2009).

En la industria avícola, la vitamina D_3 ha sido suplementada en concentraciones muy altas. Estas altas concentraciones han sido normalmente incluidas en la dieta como factor de seguridad, debido a las variabilidades en los análisis pasados, para prevenir incidencia de anormalidades de piernas en el caso de pollos de engorde y reducción en la calidad de huevos en el caso de gallinas ponedoras (Applegate *et al.* 2003). Los niveles sugeridos de vitamina D para ponedoras, varian de 300 a 2,500 UI/kg de alimento. (NRC, 1994; Leeson and Summers, 1997; Rostagno et al., 2005). Su unidad de medida está expresada en unidades internacionales.

Con respecto al fósforo, se reconoce que el modo de acción del 25OH-D_3 y los otros metabolitos D_3, podrían estar mejorando su absorción indirectamente a través de una mejor asimilación del Ca en el intestino delgado. El calcio en un pH bajo del intestino delgado puede quelatarse o ligarse a la molécula de fitato, lo que resulta en una molécula quelatada, la fitina, que tiene una solubilidad drásticamente menor a pH bajo. Al bajar el Ca de la dieta, el fósforo fítico es más fácilmente soluble y accesible a las acciones hidrolíticas de las fitasas endógenas (intestinales) o exógenas. También, las acciones catalíticas de algunas fitasas se inhiben por las altas concentraciones de fósforo (Wodzinski y Ullah, 1996). Debido a que el cambio del fósforo a la sangre desde la mucosa intestinal depende de la vitamina D_3 (Wasserman y Taylor, 1973), el 25OHD_3 puede estar ayudando a la acción hidrolítica de la fitasa por la reducción del efecto inhibitorio del fósforo.

2.3.1 EL CALCIO Y LA REPRODUCCION AVIAR

El orden para mantener la concentración extracelular de Ca^{2+}, de los vertebrados terrestres implementa una homeostasis a través de un

complejo mecanismo de retroalimentación en el cual se involucran los sistemas intestinal, renal y óseo y las hormonas reguladoras del calcio como la paratohormona (PTH), calcitonina y 1,25 dihidroxicolecalciferol ($1,25(OH)_2\ D_3$) que es la forma hormonal del colecalciferol o vitamina D_3 (Underwood and Suttle, 1999). Cambios de las concentraciones de Ca^{2+} en el plasma, son detectados por receptores sensibles de Ca^{2+}. El sistema responde al detectar estos errores de concentraciones de Ca^{2+}ajustando este transporte de Ca^{2+} dentro y fuera del pool extracelular (Miller, 1992; Hurwitz, 1996; Sasayama, 1999; Ramasamy, 2006).

En aves principalmente gallinas ponedoras, para la correcta calcificación de la cáscara se suministra calcio adicional; este es absorbido a través del útero (glándula de la cáscara o ESG por su sigla en inglés). Esto impone grandes exigencias adicionales de Ca^{2+}homeostático, ya que se requiere para la formación de la cáscara mucho mas calcio del que existe en el pool extracelular. Estas demandas surgen cuando las aves llegan a la madurez sexual antes de iniciar el ciclo de postura, para apoyar la formación del hueso medular (MB, por su sigla en inglés) y para saturar el plasma del estrógeno dependiente de la proteína ligadora del calcio, que se forma en el hígado después de que se dan los mayores requerimientos de Ca^{2+}, durante la fase de producción de huevos (Griffin, 1992; Walzem, 1996; Walzem et al., 1999).

La deposición del calcio en la cáscara no puede ser controlada por las tres hormonas reguladoras del calcio o ser controladas de una forma diferente del transporte del Ca^{2+} para ser transportadas hacia el intestino, hueso y riñón (Bar and Hurwitz, 1973b, 1975).

El lumen intestinal empieza a estar casi completamente vacío de Ca^{2+}, entre cuatro o cinco horas después de finalizar su alimentación (o cuando la luz ha finalizado para las aves que tienen libre acceso al alimento) (Hurwitz y Bar, 1966), la calcificación de la cáscara ocurre en gallinas ponedoras comerciales entre nueve y veintidós horas después de la ovulación (una o dos horas después finalizada la luz, se inicia la deposición de Ca^{2+} en la cáscara, mientras que el intestino carece de calcio dietario). Sin embargo, dos mecanismos se incrementan: primero un aumento de la necesidad de absorción de Ca^{2+} durante el periodo de oscuridad, principalmente cuando el alimento todavía está presente en el intestino; y segundo la activación de un eficiente proceso de reabsorción ósea, en su mayoría en el hueso medular. Ambos mecanismos actúan durante el periodo de calcificación de la cáscara que ocurre durante la noche. La restauración de la pérdida circadiana de iones de calcio del hueso, en aves

con producciones largas ocurre durante el subsiguiente periodo de luz del día, cuando la absorción intestinal de Ca^{2+} es activado por el nuevo consumo del calcio.

2.3.2 HUESO MEDULAR

La formación y mantenimiento del hueso medular (MB) requiere de una combinación de efectos de estrógenos y andrógenos (Bloom et al., 1942); en adición, esta mineralización requiere de un suplemento intestinal de Ca^{2+} y el metabolito activo de la vitamina D la $1,25(OH)_2\ D_3$ (Kaetzel y Soares, 1984; Newbrey et al., 1992; Newman y Leeson, 1999). Durante las 24 o 25,5 horas del calcio para la formación del huevo en gallinas y codornices, el MB se forma y reabsorbe por los osteoblastos y osteoclastos respectivamente. Los cambios en el MB es manifestado en su grado de calcificación en lugar de su volumen (Dacke et al., 1993b). Antes de la entrada de un huevo en la glándula del cascaron, la calcificación/formación del hueso medular por los osteoblastos es inducida en respuesta a la secreción de estrógenos por los folículos maduros, y su unión a receptores específicos (Sugiyama y Kusuhara, 2001) ocurren principalmente en la membrana plasmática osteoblastos (Armen y Gay, 2000).

Durante la calcificación de la cáscara, el plasma disminuye la concentración de Ca^{2+}, lo cual induce a la secreción de PTH (Dacke, 1976;. Van de Velde et al, 1984; Singh et al., 1986) y su unión a receptores específicos (Yasuoka et al. 1996; Sugiyama y Kusuhara, 2001), lo que a su vez requiere la reabsorción por los osteoclastos.

La glándula paratiroides es usualmente sensible a pequeñas desviaciones en concentraciones del calcio iónico en los fluidos extracelulares, y cuando las concentraciones caen, la PTH es secretada normalmente (Brown, 1991) y activa la vitamina D3 (Omdah y de Luca, 1973).

Mientras que el papel de las hormonas gonadales y $1,25\ (OH)_2D_3$ en la formación del MB, y de hormona paratiroidea en la reabsorción MB están bien establecidos, la participación de la calcitonina, que es secretada por las glándulas ultimobranquiales aun no se tienen certeza (Eliam et al., 1988.; Dacke *et al*., 1993).

2.3.3 FORMACIÓN ÓSEA Y MINERALIZACIÓN

Aunque deficiencias de la vitamina D genera bajos crecimientos esqueléticos y mineralización defectuosa, esto no es una evidencia inequívoca que la $1,25(OH)_2D_3$ u otro metabolito de la vitamina D tiene efectos directos en huesos y cartílagos por causa del crecimiento del esqueleto y la mineralización. Esto es particularmente debido a la extrema dificultad para estudiar mineralización *in vitro* mientras que la administración *in vivo* de la vitamina D o $1,25(OH)_2D_3$ produce elevaciones de calcio y fósforo en el plasma los cuales son responsables de la mineralización (Kanis, J.A., 1982).

2.4 METABOLISMO NORMAL DE LA VITAMINA D_3

Gracias a la acción de los rayos UV, el colecalciferol se produce en la piel y es transportado al hígado donde se hidroxila a 25-OH D_3 (calcifediol) para posteriormente ser activado en el riñón a 1-alfa,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ ó calcitriol) (Miranda *et al.,* 2009, Maynard 1981;). A partir de ese momento, la molécula empieza a cumplir sus funciones hormonales (Beatle, 1977; Kanis, 1982). La activación de esta molécula se da gracias a la acción de la enzima 1α hidroxilasa renal, la cual es controlada principalmente por la paratohormona (PTH) y por los niveles de calcio y fosfatos circulantes (De Luca, 2008). El exceso de la hormona es regulado principalmente por su almacenamiento en el tejido graso (Kanis, 1982). Algunas de las funciones más importantes de esta hormona tienen que ver con el metabolismo de calcio y fósforo, específicamente su absorción en el intestino, su reabsorción por el riñón y la mineralización (deposición) y desmineralización (movilización) de los huesos (Atencio *et al.,* 2006). A su vez, esta vitamina contribuye a mantener la homeostasis del calcio en el organismo, lo cual es vital para el buen funcionamiento del sistema muscular y nervioso (De Luca, 2008). En el útero de ponedoras, se ha encontrado que esta molécula estimula la producción de la proteína ligadora del calcio (CaBP) por sus siglas en inglés, la cual es indispensable en la absorción del calcio para la formación de la cáscara del huevo (Corradino *et al.* 1968).

Grafica 2-1: Vías metabólicas principales de la vitamina D.

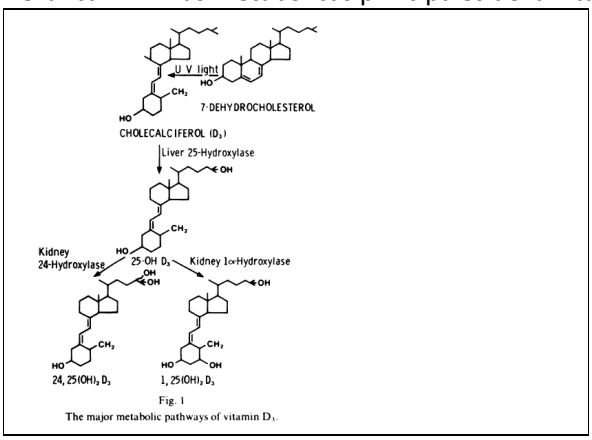


Fig. 1
The major metabolic pathways of vitamin D_3.

Tomado de: **KANIS (1982)**

En el libro "THE VITAMINS", Geralds y Combs (2008), afirman que la regulación del sistema endocrino de la vitamina D se realiza por un estricto control de la actividad de la 1-hidroxilasa por varios factores: 1,25 - $(OH)_2$-D_3, PTH, calcitonina (CT), y muchas otras hormonas, como además los niveles circulantes de Ca^{2+} y fosfatos. Además la 25-hidroxilasa parece ser poco regulada, principalmente por la concentración hepática de vitamina D, con poca o ninguna inhibición por 25-OH-D_3. Esta 25-hidroxilasa se incrementa por los inductores del citocromo P-450 (fenobarbital, difenilhidantoína) y es inhibida por la isoniazida. La síntesis renal dominante de 1,25 - $(OH)_2$-D_3 es efectuado por las respuestas de la PTH en suero y TC para los niveles de Ca^{++} y fosfato. Por lo tanto se trata de un aumento bajo las siguientes tres condiciones:

- Cuando el suero es bajo en Ca^{++}, el Ca receptormediado estimula la glándula para tiroidea a la producción de PTH, y estimula un incremento en la función renal 1-hidroxilasa.

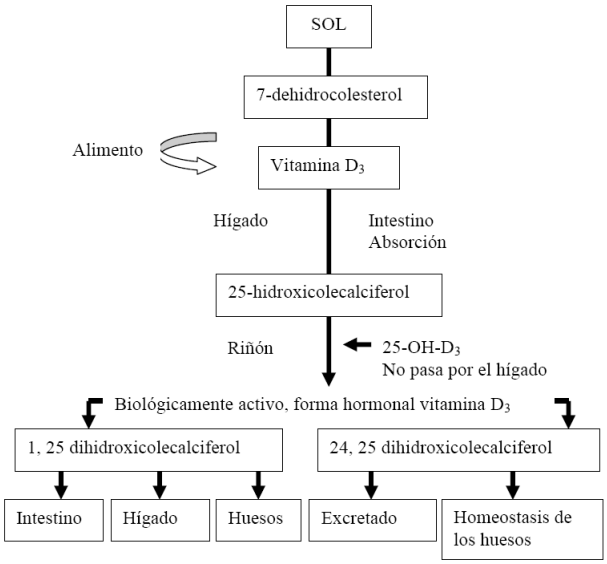
- Cuando el fosfato sérico es bajo (en presencia normal de Ca^{++} en suero), un mecanismo desconocido que parece implicar una hormona de la glándula pituitaria aumenta la 1-hidroxilasa.

- Cuando los niveles séricos de Ca^{++} y fosfato son bajos resulta un mecanismo de súper estimulación de la 1-hidroxilasa.

Este proceso de igual forma fue expuesto por Church y Pond (1987) en las aves, donde expresan que éstas poseen en la piel esteroides tisulares (7-dehidrocolesterol), provenientes de las glándulas uropígeas encontradas

en las plumas de estas y que por acción de la luz solar son convertidas en vitamina D_3 o colecalciferol. En el proceso de acicalamiento (reacomodamiento de las plumas) el ave ingiere parte de los esteroides tisulares (7-dehidrocolesterol) convertidos a vitamina D_3 o colecalciferol; una vez que la vitamina D_3 se encuentre en el tracto digestivo, llega hasta el hígado para ser transformado en el metabolito 25-OH-D_3 por la acción de los ácidos biliares; después, el metabolito llega a los riñones donde es convertido a 24,25-di-hidroxicolecalciferol y 1,25-di-hidroxi-colecalciferol (1,25 $(OH)_2D_3$), que posteriormente serán aprovechadas por el intestino y pasará al torrente sanguíneo para ser absorbida homeostáticamente por los huesos (Calabotta, 1997).

Gráfica 2-2: Ruta metabólica de la vitamina D



Fuente: Calabotta (1997)

Cuando se incluye en la dieta, algunos de los metabolitos de la vitamina D_3, se pueden presentar respuestas que no pueden ser obtenidas con la vitamina D_3 por sí sola. Si se quisiera obtener con vitamina D_3 respuestas similares a las vistas con 25-OH-D_3 o algunos de sus metabolitos, se estaría acercando a los síntomas de toxicidad (Bar et al., 1980). Ésta puede ser explicada por diferencias en la absorción intestinal entre vitamina D_3 y 25-OH-D_3. Cuando la vitamina D_3 es hidroxilada a 25-OH-D_3, se vuelve más polar naturalmente. De tal manera, toma diferentes características de absorción en el intestino delgado. La mayoría de ambos compuestos son absorbidos principalmente en el duodeno y en la parte superior del yeyuno (Bar *et al*., 1980). La absorción de colecalciferol llega a ser de aproximadamente 70-75%, en cambio la de 25-OH-D_3 se acerca al 90% (Leichtmann *et al*., 1991)

2.4.1 RUTAS METABOLICAS DE LA VITAMINA D

La cantidad de 25OH-D_3 en el plasma es una función directa del aporte exógeno o endógeno de la vitamina. Las actividades de esta vitamina se pueden categorizar de acuerdo al sitio del cuerpo donde ocurren; por ejemplo la proteína ligadora del calcio mejora la absorción del calcio por el intestino, orina y deposición en cáscara respectivamente. (Coty, 1980; Jande et al., 1981;; Ameenuddin, et al 1982; Ameenuddin et al., 1985).

La vitamina D_3 circula en el plasma y es captada rápidamente por el hígado donde sufre su primera transformación que la convierte en 25-(OH)D_3, la forma circulatoria predominante, incluidos la vitamina D_3 y sus metabolitos. Esta reacción es catalizada por la enzima 25-hidroxilasa presente en la fracción microscópica del hígado (De Luca, 2008).

La conversión de vitamina D a 25-HO D_3 carece prácticamente de sistema de regulación, por lo que la administración de vitamina D en dosis farmacológicas produce incrementos anormales en la tasa de circulante de 25-HO-D_3. La 25-OH-D_3 es transportada por una alfaglobulina de Peso Molecular 52.000, el mismo sistema se utiliza para el transporte de la Vitamina D y todos sus metabolitos, pero la 25-OH-D_3 tiene la mayor afinidad (De Luca, 2008).

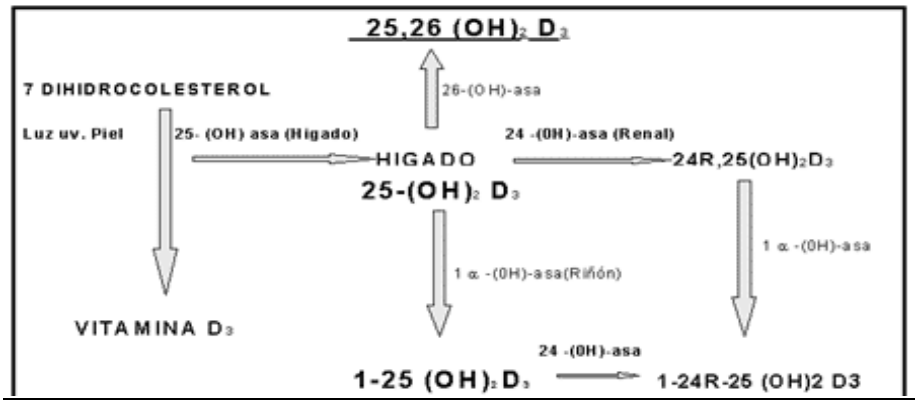
En concentraciones fisiológicas la 25-OH-D_3 no actuaría sobre ningún proceso fisiológico. Para ello debe ser activada lo que ocurre en el riñón a nivel mitocondrial, bajo la acción de la enzima 25-OH-D_3 – 1-α hidroxilasa (1-αHasa). En este sistema enzimático, una flavoproteína, una proteína ferrosulfurada y el Citocromo P-450, participan en la hidroxilación del sustrato.

La 1,25 $(OH)_2$-D_3 satisface todos los requerimientos para ser considerada una hormona. Se origina a partir del sistema Pre-Hormona Vitamina D - 1,25 $(OH)_2$-D_3 en un órgano específico: el riñón. La velocidad de síntesis está regulada por un complejo mecanismo en el que participan iones y hormonas; una vez formada la 1,25 $(OH)_2$-D_3, la misma ejerce sus efectos a nivel intestinal, renal y óseo.

Otro sistema enzimático, presente en el riñón, convierte a la 25-OH-D_3 en otro esteroide: la 24,25 $(OH)_2$-D_3. La enzima que actúa en esta OH transformación es la 25-OH-D_3–24hidroxilasa (24-OHasa), que se encuentra en el riñón, intestino y cartílago. La hidroxilación en la posición 24 sería el paso inicial en la inactivación del sustrato 25-OH-D_3 y también en la inactivación de la 1,25$(OH)_2$-D_3, ya que este esteroide se hidroxila a sí

mismo en el trihidroxilado 1,24,25 $(OH)_3$-D_3 como se observa en la gráfica 2-3 (De Luca, 2008).

Gráfica 2-3: Participación de la 24-OHasa



Fuente: De Luca, L. 2008

- *Efecto intestinal*: La 1,25 $(OH)_2D_3$, estimula la absorción de calcio actuando de forma directa sobre las células del epitelio intestinal. El sitio principal de acción es el duodeno y la primera porción del yeyuno. El tiempo entre la administración de la 1,25 $(OH)_2D_3$ y el aumento de la calcemia es de tres a cuatro horas, en contraposición de la vitamina D cuyo intervalo es mayor (ocho a diez horas). Además la 1,25 $(OH)_2D_3$ estimula el transporte de fosfatos y el sitio principal de acción es a nivel del yeyuno e íleon. En altas dosis la 25(OH)D_3 también es capaz de estimular la absorción de calcio y fósforo.

- *Efecto óseo*: La 1,25-$(OH)_2$-D_3 produce una elevación de la calcemia, trabajando a nivel del osteoclasto aumentando el número y la actividad y estimulando la totalidad de la superficie de resorción. La 25(OH)D_3 es el compuesto más potente para estimular la mineralización ósea. La 1,25-$(OH)_2$-D_3 es en principio un metabolito sintetizado ante un estrés hipocalcémico y su papel fisiológico sería junto con la PTH, el restablecimiento rápido de la calcemia, estimulando la absorción intestinal y actuando directamente sobre el hueso para promover la resorción del tejido óseo con la liberación de calcio y otros minerales.
  Una vez restablecida la calcemia, cesa la síntesis de 1,25-$(OH)_2$-D_3, y comienza la producción de 24,25(OH)D_3. La acción de la 25(OH)D_3, se explica en principio por su conversión a 1,25-$(OH)_2$-D_3, con recuperación de la calcemia, estimulando luego activamente la mineralización del hueso por intermedio de la 24,25(OH)D_3.

- *Efecto renal*: Tanto la 1,25-$(OH)_2$-D_3 como la 25$(OH)D_3$, aumentan la resorción de calcio y fósforo. La administración de la vitamina D induce a la síntesis de una proteína ligadora de calcio en el túbulo contorneado distal y en el túbulo colector, puntos de acción de la PTH. En el riñón la 1,25 $(OH)_2D_3$ inhibe la actividad de la 25(OH)D1-α hidroxilasa y estimula la actividad de la 25(OH)D24 hidroxilasa, con la consiguiente formación de la 24,25 $(OH)D_3$.

Abdulrahim *et al.* (1979) reportaron que el uso de vitamina D en ponedoras es vital para asegurar una producción normal (peso y cáscara) de huevos y para alcanzar los parámetros productivos esperados. Igualmente, Soto y Hernández (2004) reportaron aumentos en la producción y peso del huevo y en la conversión alimenticia de ponedoras, al igual que disminución en el número de huevos fracturados durante el ensayo, cuando se adicionó 300 g de 25-hydroxycholecalciferol a la premezcla que contenía una optima cantidad de vitamina D_3 en sus dietas. Por su parte, Quintana (2008) señaló que un aporte adecuado de vitamina D en la dieta, ayuda a prevenir la llamada "Fatiga de Jaula", previniendo en gran medida los problemas óseos en aves sometidas a un alto grado de confinamiento. Por lo tanto, una manera efectiva y económica de resolver los problemas generados por deficiencia de 1,25-$(OH)_2$-D_3 es suplementar en la dieta de 5 a 10 µg/kg de alimento de 1αOH-D_3, la cual se hidroxilará rápidamente a su forma activa 1,25-$(OH)_2$-D_3. Adicionalmente, a menor concentración de calcio en el tubo digestivo se formará menor cantidad de jabones con ácidos grasos, mejorando la absorción de la grasa.

Una propiedad importante del 1αOH-D_3 es que funciona sinérgicamente con enzimas fitasas exógenas, ya que éstas últimas actúan a pH bajo en el tubo intestinal superior para ayudar en la digestión del fitato a fosfato e inositol, mientras la 1αOH-D_3 actúa primordialmente en el tubo intestinal inferior a un pH más alto (Mitchell y Edwards Jr., 1996).

2.4.2 METABOLISMO DE LA VITAMINA D Y SU REGULACION EN LAS AVES

Entre los factores que regulan la absorción de Ca^{2+} en las aves, la vitamina D parece ser la más importante. Muchos otros factores tales como el contenido de Ca^{2+} y fosfato en la dieta, la maduración gonadal, la producción activa de huevos y la calcificación de la cascara, parecen

modular la absorción de Ca^{2+} a través de los metabolitos de la vitamina D en su expresión (Bar et al., 1980).

En las aves la bioactividad de la vitamina D_3 es mayor que la de ergocalciferol (vitamina D_2), debido a que la afinidad de plasma aviar por la proteína ligadora de vitamina D (DBD) es notablemente inferior a la vitamina D_2 que para los derivados de la vitamina D3, mientras que la afinidad de DBD de los mamíferos es similar para ambos (DeLuca et al., 1988).

La vitamina D3, ya sea de fuente dietario o sintetizada en la piel por el 7-dehydroxycholesterol en respuesta a la radiación ultravioleta y la temperatura de la piel es bioactiva, por primera vez en el hígado y luego en el riñón. Esta bioactivación implica la participación de tres o más citocromo P450 (CYP). La vitamina D3 es el primero 25-hidroxilado en los microsomas y en las mitocondrias del hígado para formar 25-hidroxivitamina D ($25OHD_3$), que es el principal metabolito circulante. Al igual que en otros metabolitos de la vitamina D, EL $25OHD_3$ en su mayoría vinculados a DBD, parece ser un poco más activo que la vitamina D_3 en sí, al parecer debido a su mejor absorción intestinal (Bar et al., 1980). La activación de la síntesis de $25OHD_3$ se produce en el riñón mitocondrial, donde se convierte en 1α-hidroxilado por la 25-hidroxivitamina-D-1α-hidroxilasa (1-hidroxilasa; CYP27B1), para formar la forma hormonal de la vitamina D_3, ($1,25\ (OH)_2D_3$). El riñón también expresa, una alta actividad de la vitamina D derivada de 24-hidroxilasa (24-hidroxilasa, CYP24A1), que es, probablemente, responsable de inactivación de los derivados de la vitamina D.

Aunque el principal lugar de actividad tanto de la 24 como de la 1hidroxilasa es el riñón, ambos se encuentran también en otros tejidos incluyendo la placenta de los mamíferos, el intestino, el hueso y la piel.

2.5 La vitamina D_3 como hormona esteroide

Algunos autores definen la vitamina D_3 como una hormona (Maynard, 1981; Kanis, 1982)), debido a que por lo menos algunos, si no todos, los mecanismos de acción de vitamina D_3 se ajustan al modelo clásico de una hormona esteroide. Es decir, que tiene células específicas de órganos diana con proteínas específicas del receptor, y el receptor ligando movimientos complejos con el núcleo, donde se une a la cromatina en secuencias específicas de ADN donde estimula la transcripción de ciertos

genes corriente abajo para producir ARNm específicos que codifican la síntesis de proteínas específicas. Es por esto que los metabolitos activos de la vitamina D_3 pueden ahora ser considerados hormonas en el sentido de que su tasa de producción es controlada y a menudo afecta a los tejidos diana en sitios alejados de su fuente de producción (Kanis, 1982).

Por ejemplo el más conocido órgano blanco de los efectos del metabolito de la vitamina D_3, el 1, 25 $(OH)_2D_3$, se encuentra en el intestino para estimular la absorción tanto del calcio como del fósforo y de igual manera en el hueso para provocar la liberación de calcio y fosfato. Por lo tanto, en común con otros sistemas hormonales, existe un mecanismo de retroalimentación negativa que puede mediante la 1,25 $(OH)_2D_3$ en el plasma, aumentar el calcio y el fosfato y a su vez inhibir su síntesis y secreción. Es por estas propiedades que la 1,25 $(OH)_2D_3$, es considerada actualmente como una hormona en lugar de una vitamina (Kanis, 1982).

2.6 LA VITAMINA D EN GALLINAS PONEDORAS

La vitamina D_3 es diez (10) veces más eficiente en las aves que la vitamina D_2 (Hurwitz et al., 1996). La deficiencia de la vitamina D en el crecimiento de las aves produce hipocalcemia, impidiendo el desarrollo del esqueleto a través del cartílago y la ampliación de las epífisis de los huesos largos y bordes debilitados (Noff et al., 1982; Long et al., 1984).

Una vez el esqueleto ha tomado el tamaño adulto, la vitamina D solamente es usada para la producción de huevos en gallinas ponedoras y reproductoras. La producción de huevos, el tamaño del huevo y la dureza de la cáscara disminuyen si las reservas óseas van progresivamente agotándose. Cíclicamente las gallinas en producción liberan estrógenos para el ovario, para maximizar la producción de la 1,25 dihidroxi-vitamina D con la concurrente formación de la cáscara del huevo (Castillo et al., 1979). Como resultado, niveles de la proteína ligadora de calcio en el útero y el calcio en la médula ósea son alteradas para facilitar la formación de la cáscara del huevo.

La membrana del saco vitelino también responde a la 1,25 dihidroxi-vitamina D al mismo tiempo y una parte del calcio para la cáscara es transferido dentro de la yema para posteriormente ser usado en el nacimiento (Clark et al., 1989), sin embargo uno o más de los otros metabolitos presentes pueden completar el desarrollo embrionario y la formación de la cáscara (Ameenuddin et al., 1982).

2.6.1 25-OH-D_3 EN LA FISIOLOGÍA Y METABOLISMO DE LAS AVES

Eismann y colaboradores en 1977 consideraron que el metabolito 25-OH-D_3 era un buen indicador sobre los niveles adecuados o deficientes de la vitamina D_3. El metabolito 25-OH-D_3 se absorbe con más facilidad que la vitamina D_3 (Bar *et al.* 1980), su absorción se efectúa mediante difusión pasiva, mientras que el transporte del metabolito D_3 implica la formación de un micelio y requiere energía. Una vez absorbida, el 25-OH-D_3 se transporta en la sangre ligada a una globulina (Haddad y Walgate, 1976). En términos relativos, la proteína ligante de la vitamina D_3 tiene una mayor afinidad por la 25-OH-D_3 que por vitamina D_3. La conversión de vitamina D_3 a 25-OH-D_3 ocurre en el hígado y está regulada parcialmente por un mecanismo de retroalimentación. Sin embargo, en el intestino también se puede presentar una cierta conversión al metabolito activo (Tucker *et al.,* 1973).
El metabolito 25-OH-D_3 se convierte subsiguientemente en 1,25-OH-D_3 en el riñón, dependiendo de las necesidades fisiológicas del animal.

2.6.2 1αOH-D_3 como fuente de vitamina D para aves

Las aves de gran producción ya sean pollo de engorde, reproductoras o gallinas ponedoras no pueden producir lo suficientemente rápido la forma hormonal activa de la vitamina D, la 1,25-$(OH)_2$-D_3. Por lo tanto la mejor manera de resolver este problema solamente es alimentar con 5 µg/kg de 1αOH-D_3.

Cuando se administra 1αOH-D_3, ésta se hidroxila rápidamente a la forma activa 1,25-$(OH)_2$-D_3. También aumenta la absorción de calcio, como la de fósforo dando como resultado mayores minerales traza divalentes. Con

menos calcio en el tubo digestivo para formar jabones de ácidos grasos insolubles, se mejora la absorción de la grasa (Boris *et al. 1977)*.

Los huesos son otro tejido objetivo para el 1,25-$(OH)_2$-D_3, por lo que la incidencia de alteraciones óseas, el raquitismo por deficiencia de calcio y fósforo y la discondroplasia de la tibia disminuyen o se eliminan por completo al añadir 1αOH-D_3 a las dietas de las aves. Una propiedad importante del 1αOHD_3 es que funciona independientemente de las enzimas fitasas exógenas. La fitasa funciona en el tubo gastrointestinal superior a pH bajo para ayudar a la digestión del fitato a fosfato e inositol.

El 1αOH-D_3 activado funciona en el tubo gastrointestinal inferior a un pH alto para ayudar a la absorción del calcio, fósforo y minerales traza. Aunque el 1αOH-D_3 y la fitasa trabajan juntos para aumentar la utilización del fósforo vegetal, solamente el 1αOH-D_3 tiene por tejido objetivo al hueso, de tal forma que es directamente activo en reducir las deformaciones óseas. Se dice que la 1αOH-D_3 termoestable es la mejor opción para maximizar la eficiencia de la utilización del alimento y para mantener la salud de los huesos y patas del pollo de engorda o gallinas ponedoras (Boris *et al. 1977)*.

2.7 Descripción de la 1αOH-vitamina D_3

La 1αOH-D_3 usada en el experimento secada en tambor es un producto de color café claro, seco, en forma de hojuelas finas. Las partículas contienen 1αOH-vitamina D_3 en aceite de cacahuate en gotitas en almidón. Como conservadores se añaden benzoato de sodio y ácido sórbico, BHT como antioxidante y monoestearato de sorbitán como emulsificante.

La habilidad de la 1-α hydroxicolecalciferol (1αOH-D_3) como sustituto del colecalciferol (D_3) en pollitos jóvenes fue descrito por primera vez por Haussler et al. (1973). Usando pollitos de tres a cuatro semanas de vida, con una dieta deficiente en vitamina D, se demostró que la 1αOH-D_3, es igual de eficiente que la 1,25-dihydroxycholecalciferol [1,25-$(OH)_2D_3$] en inducir la absorción de calcio en el intestino y en la movilización de calcio óseo. Ellos encontraron que la 1α-OHD_3 y la 1,25-$(OH)_2D_3$, fue diez veces más activa que la D_3 en la movilización ósea (Edwards et al., 2002).

Se ha demostrado que la suplementación con 1-α hydroxicolecalciferol (1αOH-D_3), tiene efectos cualitativos y cuantitativos similares a los efectos de la fitasa exógena (Driver et al., 2005). Varios hidroxilados análogos de la

vitamina D_3, incluyendo la forma hormonal de la vitamina, la (1,25-$(OH)_2D_3$) y análogos sintéticos como la (1α-OHD_3) han sido usadas para mejorar la utilización del fósforo fítico en pollitos de engorde bajo condiciones experimentales (Edwards, 1993; Biehl et al., 1995; Mitchell y Edwards, 1996; Biehl and Baker, 1997a).

La habilidad de la 1,25$(OH)_2D_3$ y la 1α-OHD_3 para mejorar la absorción de calcio y fósforo en la mineralización ósea, es de suma importancia para la industria avícola. El fósforo es el tercer ingrediente más importante para la dieta de las aves después de la energía y la proteína y la excreción del fósforo comienza a tener un gran interés en aquellos países donde se práctica una producción ganadera muy intensiva (Abdulrahim et al., 1979).

Los estudios presentados en este trabajo se llevaron a cabo con el fin de evaluar la eficacia de la 1α-OHD_3 como sustituto de la vitamina D_3 cuando se incluye como una práctica habitual en la dieta de gallinas ponedoras y compararla con la 25-OH-D_3 como un control positivo.

La dosis usada en el ensayo para las dos etapas fisiológicas evaluadas fue la recomendada por la empresa fabricante de la molécula, que corresponde a 12,5 g/ton que equivale a 5 µg/kg de alimento. Por lo tanto la eficacia de la 1α-OHD_3 como sustituto de la vitamina D_3 se evaluó con niveles conocidos que requieren diferentes cantidades de D_3 en la dieta para su máxima expresión (Edwards et al., 1994)

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

3.1.1 Lugar de trabajo

Los experimentos fueron realizados en los galpones experimentales del Centro Agropecuario San Pablo perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

El Centro Agropecuario se localiza en el sector oriental del departamento de Antioquia, municipio de Rionegro, vereda "El Tablacito", a una distancia aproximada de 52 Km de la ciudad de Medellín, a una altitud aproximada de 2100 metros sobre el nivel del mar en la zona de vida bosque muy húmedo Montano Bajo (bmh-MB), de acuerdo con el sistema de clasificación de zonas de vida de Holdridge. La temperatura oscila entre 12 y 18 ^{o}C y se presenta un promedio anual de lluvias de 2.280 mm. La humedad relativa es bastante elevada durante la noche y en las primeras horas del día, teniéndose un registro promedio de 75,5 %.
Durante el periodo de levante, (4 a 16 semanas de edad) las aves se alojaron en 24 corrales experimentales de cuatro metros cuadrados cada uno, bajo un sistema de levante en piso con comederos manuales tipo tolva y bebederos en campana automático conservando una densidad de 10 aves por metro cuadrado y la ventilación fue controlada por cortinas de plástico avícolas.

Durante las primeras cuatro semanas de vida (cría), las aves estuvieron en un galpón de levante diseñado para tal fin, donde se les suministró calefacción, alimento y vacunación según las recomendaciones técnicas de manejo propias de la línea genética.

Para la evaluación en la etapa de producción otro grupo de aves fue alojado en jaulas tipo convencional (californiano) de a tres aves por jaula para una densidad de 555 c^2 por ave con un sistema de alimentación manual por canoa y suministro de agua automático por niple a voluntad.

3.1.2 Animales

Para la primera evaluación durante la etapa de levante y desarrollo se emplearon 960 pollitas de la línea Lohmann Brown de cuatro (4) semanas de vida, hasta la semana 16; este periodo abarca desde el instante en que las aves terminaron el periodo de crianza (calefacción), hasta la madurez sexual, para luego ser trasladadas hacia los galpones de producción.

Para la segunda evaluación durante el periodo de postura, se emplearon 360 gallinas de la misma línea comercial, desde la semana 55 hasta la semana 68 de vida, periodo conocido como fase dos de producción el cual se caracteriza por presentar huevos de mayor tamaño.

3.2 Método

Para el primer experimento, las aves fueron distribuidas aleatoriamente en 24 corrales de cría con 40 aves cada uno asignando seis (6) corrales a cada uno de los cuatro (4) tratamientos (T1, T2, T3, T4). El espacio disponible por ave fue de 1000 cm^2 por ave. La evaluación comprendió un periodo total de 13 semanas a partir del inicio de la cuarta semana de vida de las aves y hasta finalizar la semana 16.
Las aves recibieron un alimento balanceado basado en maíz y torta de soya, de acuerdo con la etapa productiva en que se encontraron siguiendo los estándares recomendados para la línea.

- Preiniciación: Alimento balanceado comercial para pollo de engorde suministrado durante la primera semana de vida, el cual al tener alta densidad de nutrientes, principalmente en proteínas y energía, y en presentación de micro-peletizado, buscaba obtener un peso y uniformidad alta a los siete días justo para la práctica de despique el cual por lo general afecta el consumo durante los dos días subsiguientes.

- Iniciación: Alimento en forma de harina suministrado a partir del inicio de la segunda y hasta finalizar la semana seis (6) de vida.

- Levante: Alimento en forma de harina suministrado a partir de la semana 7 hasta la semana 16 de vida.

Todos los alimentos fueron elaborados en el Laboratorio de Alimentos Balanceados de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín siguiendo las recomendaciones de requerimientos nutricionales para cada una de las etapas (NRC, 1994).

Durante el periodo de producción (55 hasta 67 semanas de vida), el total de las aves asignadas a cada tratamiento se alojó en cinco (5) jaulas contiguas (3 aves por jaula). La evaluación comprendió un periodo total de 12 semanas y una semana de adaptación a la dieta en las cuales se realizaron las determinaciones pertinentes con lo que la evaluación comprendió un periodo total de 95 días.

3.2.1 Descripción de los tratamientos

Para el experimento uno se contó con los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1: (Control): Las aves recibieron un alimento balanceado de acuerdo a la etapa productiva en la que se encontraban, con la inclusión de una fitasa comercial a razón de 50 g por tonelada de alimento.

- Tratamiento 2: Las aves recibieron el mismo alimento del tratamiento control, con la adición de vitamina 1α OH-D_3 a razón de 12,5 g por tonelada (5µg 1α OH-D_3 /kg de alimento) sin tener en cuenta en la formulación los aportes de calcio y fósforo.

- Tratamiento 3: Las aves recibieron el mismo alimento del tratamiento control, con la adición de la vitamina 1α OH-D_3, a razón de 12,5 g por tonelada de alimento, Considerando un aporte de 0.05% de Ca y 0.05% de P disponible en la formulación.

- Tratamiento 4: Las aves recibieron el mismo tratamiento del grupo control con adición de vitamina 25 hidroxicolecalciferol , a razón de 5,52 g/ton de producto (6,9µg $25OHD_3$/kg de alimento) sin valorar en la formulación los aportes de calcio y fósforo.

Para el experimento dos durante la etapa productiva comprendido entre la semana 55 de vida y hasta finalizar su ciclo de postura, se contó con los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1**:** (Control): Se ofreció un alimento balanceado con una dieta a base de maíz y torta de soya, formulado de acuerdo a la etapa productiva en que se encontraban las aves, con la inclusión de una fitasa comercial a razón de 50 g por tonelada de alimento.

- Tratamiento 2: Las aves recibieron el mismo alimento que el ofrecido en el tratamiento 1, con la adición de la vitamina 1 alfa-Hidroxicolecalciferol (1α OH-D_3) a razón de 12,5 g por tonelada sin valorar en la formulación los aportes de calcio y fósforo.

- Tratamiento 3: Las aves recibieron el mismo alimento que el ofrecido en el tratamiento 1, con la adición de 1α OH-D_3. matrizada dentro del alimento a razón de 12.5 g/ton de alimento considerando una liberación de 0.05% de fósforo disponible y 0.05% de calcio.

- Tratamiento 4: Las aves recibieron el mismo tipo de alimento que el tratamiento 1 (control), con la adición de vitamina 25 OH-D_3 matrizada dentro del alimento a la dosis recomendada por el fabricante de 5.52g/ton de alimento. Considerando una liberación de 0.05% de fósforo disponible y 0.05% de Calcio.

Todas las aves tuvieron la misma oferta de alimento y las dietas fueron balanceadas para un consumo de 116.6 g/ave/día.

Tanto en la etapa de levante como de producción, todas las aves se alimentaron de acuerdo a sus requerimientos de nutrientes diarios y las dietas fueron formuladas para suplir los mismos niveles de todos los demás nutrientes de acuerdo a los requerimientos mínimo establecidos por el NRC (1994).

La composición nutricional y los ingredientes alimenticios de las dietas experimentales, empleadas durante los diferentes periodos (levante y producción), se describen en la tabla 3-1.
Los niveles de vitaminas y minerales para los dos experimentos se describen en la tabla 3-5

Tabla 3-1: Aporte de Nutrientes en el alimento de inicio para cada uno de los tratamientos entre la semana 4 a la 6

Nutriente	T1	T2	T3	T4
EM Aves Kcal/kg	2960	2960	2960	2960
Proteína Bruta %	19,56	19,56	19,60	19,56
Grasa %	3,49	3,49	3,50	3.49
Fibra Bruta %	2,71	2,71	2,77	2,71
Cenizas %	5,69	5,69	5,49	5,69
Calcio %	0,95	0,95	0,95	0,95
Fósforo disponible %	0,44	0,44	0,44	0,44
Lisina digestible %	1,07	1,07	1,07	1,07
Vitamina D3 UI	3,000,000	3,000,000	3,000,000	3,000,000

Tabla 3-2: Aporte de Nutrientes en el alimento de levante para cada uno de los tratamientos entre las semanas 7 a la 16

Nutriente	T1	T2	T3	T4
EM Aves Kcal/kg	2800	2800	2800	2800
Proteína Bruta %	16,69	16,69	16,7	16,69
Grasa %	4,12	4,12	4,26	4,12
Fibra Bruta %	3,94	3,94	4,05	3,94
Cenizas %	6,86	6,86	6,67	6,86
Calcio %	1,20	1,20	1,20	1,20
Fósforo disponible %	0,38	0,38	0,38	0,38
Lisina digestible %	0,78	0,78	0,78	0,78
Vitamina D3 UI	3,000,000	3,000,000	3,000,000	3,000,000

Tabla 3-3: Composición de las dietas experimentales en la etapa de producción

INGREDIENTE	TTO 1 Y 2	TTO 3	TTO 4
MAIZ 7-12	**284,75**	**284,16**	**284,16**
TORTA SOYA 47%	**100,08**	**99,32**	**99,32**
CARBONATO DE CALCIO	**40,32**	**40,19**	**40,18**
SALVADO DE TRIGO	**15,30**	**17,89**	**17,88**
FOSFATO MONODICALCICO	**3,02**	**1,900**	**1,812**
SAL DE MAR	**1,8**	**1,8**	**1,8**
VITAMIX POSTURA©	**1,8**	**1,8**	**1,8**
MYCO-AD	**1,125**	**1,125**	**1,125**
METIONINA DL	**0,714**	**0,7 15**	**0,715**
INHIMOLD PC	**0,45**	**0,45**	**0,45**
BICARBONATO DE SODIO	**0,225**	**0,225**	**0,225**
BACITRACINA DE ZINC	**0,1575**	**0,1575**	**0,1575**
LISINA HCL	**0,130**	**0,130**	**0,130**
FENBENDAZOLE	**0,05625**	**0,05625**	**0,05625**
ROVABIO PONEDORAS 50g	**0,022545**	**0,022545**	**0,022545**
FITASA PONEDORAS 30-Natuphos©	**0,013545**	**0,013545**	**0,013545**
LUCANTIN ROJO	**0,01215**	**0,01215**	**0,01215**
ALPHA-D_3-(1-OH-D3)	**0**	**0,00567**	**0**
LUCANTIN AMARILLO	**0,0054**	**0,0054**	**0,0054**
HYD VEHICULIZADA 2.2%	**0**	**0**	**0,112545**

Tabla 3-4: Composición nutricional de los tratamientos en la etapa de producción

Nutrientes	Unidad	TTO 1 Y 2	TTO 3	TTO 4
PESO	Kg	1	1	1
HUMEDAD	%	11,613	11,643	11,643
E.M. AVES	Kcal/kg	2780	2780	2780
PROTEINA BRUTA	%	15,8	15,8	15,8
GRASA	%	3,001	3,016	3,016
FIBRA BRUTA	%	2,863	2,914	2,914
CENIZAS	%	12,501	12,245	12,248
CALCIO	%	3,6	3,6	3,6
FOSFORO DISP.	%	0,35	0,35	0,35
FOSFORO TOTAL	%	0,452	0,404	0,400
CLORO	%	0,269	0,270	0,270
SODIO	%	0,201	0,201	0,201
POTASIO	%	0,675	0,677	0,677
B. ELECTROLITICO	mEq/kg	184,274	184,660	184,647
LISINA	%	0,836	0,836	0,836
METIONINA	%	0,411	0,411	0,411
MET + CIST	%	0,696	0,696	0,696
TREONINA	%	0,6	0,599	0,599
TRIPTOFANO	%	0,189	0,189	0,189
ARGININA	%	1,03	1,029	1,029
ISOLEUCINA	%	0,644	0,642	0,642
LEUCINA	%	1,36	1,358	1,358
VALINA	%	0,741	0,741	0,741
HISTIDINA	%	0,434	0,434	0,434
FENILALANINA	%	0,773	0,772	0,772
LIS DIG AVES	%	0,74	0,740	0,740
MET DIG AVES	%	0,388	0,388	0,388
M + C DIG AVES	%	0,629	0,629	0,629
TRE DIG AVES	%	0,523	0,522	0,522
TRP DIG AVES	%	0,16	0,161	0,161
ARG DIG AVES	%	0,924	0,923	0,923
ILE DIG AVES	%	0,586	0,584	0,584
LEU DIG AVES	%	1,253	1,250	1,250
VAL DIG AVES	%	0,66	0,659	0,659
HIS DIG AVES	%	0,392	0,392	0,392
FEN DIG AVES	%	0,708	0,706	0,706

Tabla 3-5: Premezcla mineral usada en los dos experimentos

NUTRIENTES	CANTIDAD	UNIDAD
VITAMINA A	10.000.000	UI
VITAMINA D3	2000.000	UI
VITAMINA E	5.000	mg
VITAMINA K	3.000	mg
TIAMINA	800	mg
RIBOFLAVINA	5.000	mg
NIACINA	20.000	mg
ACIDO PANTOTENICO	8.000	mg
PIRIDOXINA	2.000	mg
BIOTINA	10	mg
VITAMINA B_{12}	10	mg
ACIDO FOLICO	250	mg
CLORURO DE COLINA 60%	350.000	mg
ZINC	68.000	mg
MANGANESO	76.000	mg
COBRE	5.100	mg
HIERRO	45.000	mg
SELENIO	300	mg
YODO	500	mg
ANTIOXIDANTE	100.000	mg
HUMEDAD MAXIMA	5.00	%

3.2.2 variables de respuesta del experimento uno

Durante el periodo de cría y levante (semanas 4 a 16 de vida) que correspondió al primer experimento, se realizaron las siguientes mediciones:

- **Peso corporal (g):** Se realizó el pesaje de diez (10) aves por repetición con una periodicidad semanal; reportado como promedio.

- **Porcentaje de Uniformidad:** Se determinó semanalmente a partir del peso de las aves y se consideró una desviación estándar del 10% de su peso promedio.

- **Consumo de alimento acumulado (gramos/ave):** La oferta de alimento fue controlada (restringida) y se suministró la misma cantidad a cada una de las aves de cada tratamiento. El consumo se determinó semanalmente en cada una de las repeticiones dividiendo el consumo total de alimento por el número de pollitas de cada repetición; reportado como promedio.

- **Ganancia de peso:** Se determinó por la diferencia entre el peso inicial y el final de las aves, dividido entre la duración del periodo de evaluación.

- **Porcentaje de mortalidad:** Se determinó en forma semanal y acumulada dividiendo el número de aves muertas de forma natural estableciendo la causa de la muerte, por el total de aves alojadas multiplicado por 100.

- **Desarrollo de la Canilla:** Se realizó a 10 aves por repetición en las semanas 4, 8, 12 y 16 de vida mediante el uso de un pié de rey de alta precisión, el cual mide la longitud de la tibia.

Contenido mineral en tibia:

.

- Para determinar el nivel de fijación de calcio y fósforo de las pollitas de acuerdo a las fuentes de suplementación, a las 12 y 16 semanas de vida dos (2) aves por repetición (12 aves por tratamiento) fueron sacrificadas por electrocución y se removieron las dos tibias de cada unidad experimental identificándola con el respectivo número de tratamiento y repetición y ubicación de la tibia (izquierda o derecha). Para la preparación de la muestra se retiró el tejido blando de las tibias; éstas fueron sumergidas en agua en ebullición por treinta (30) minutos, luego se retiraron del agua y con la ayuda de un objeto filoso se raspó para retirar los restos de carne. Para extraer la grasa, se utilizó un reflujo con éter de petróleo por cuatro horas. Una vez desengrasado el hueso, se secó en estufa a temperatura de 95-100 °C hasta obtener el peso constante (alrededor de 5 horas). Terminado este proceso las muestras ya secas se mantuvieron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, luego se pesó en balanza analítica, registrando el peso con aproximación a 0.0001 g (W 1).

  Para obtener las cenizas, las tibias libres de grasa y humedad, se depositaron en cápsula de porcelana y se incineró el material a la temperatura entre 450-550 °C durante cuatro (4) horas. El residuo de la incineración corresponde a las cenizas; el peso de la ceniza ósea se registró con aproximación a 0.0001 g (W 2).

  La relación entre W1 (peso muestra seca) y W2 (peso cenizas) se relacionó a porcentaje mediante la ecuación

  % cenizas = W2*100 / W1

- **Determinación de calcio y fósforo:** Para la determinación de calcio y fósforo se tomó una porción de las cenizas obtenidas por cada muestra y se realizó el análisis correspondiente. El contenido de los elementos se relacionó en porcentaje sobre la muestra de hueso limpio, desengrasado y seco. Una alícuota de 0,1 g de ceniza se solubilizó en HCL al 50% y posteriormente al 10% en calentador

a una temperatura de 200^{o}C, luego se diluyeron con agua deionizada para reducir la acidez. Finalmente se trasvasijaron y filtraron a matraz de 50 ml ajustando volumen con agua deionizada. Se almacenaron en frascos de polipropileno.

La determinación complexo métrica de calcio, se basó en las normas EN ISO 9963-1: 1995 y EPA 130.2 y 310.1. La determinación se realizó por titulación automática con el titulador Metrohm, modelo Titrando 904.

El contenido de fósforo se obtuvo al diluir una alícuota de los frascos almacenados, en agua deionizada, cloruro de lantano 5%, molibdato de amonio (NH4) y ANSA, para luego ser leídas usando un espectrómetro visible –UV modelo Cintra 5 (A.O.A.C, 1995)

Evaluación Económica:

La rentabilidad de cada tratamiento se determinó evaluando los costos de alimento por ave levantada.

Costo de alimentación por ave = Consumo de alimento por ave (kg) X costo de kg de alimento ($) para cada uno de los tratamientos

3.2.3 Variables de respuesta del experimento 2

Durante el período producción (semana 55 hasta finalizar la postura), se efectuaron las siguientes mediciones:

- **Peso corporal promedio:** Se determinó por pesaje del total de las aves de cada repetición al inicio y al final del periodo experimental.
- **Porcentaje de producción de huevos (%):** Su cálculo consideró el total de huevos puestos dividido por el número de gallinas vivas multiplicado por 100. Los huevos se recolectaron una vez al día y

se contabilizaron por repetición. Se expresó como promedio semanal.

- **Número de huevos por gallina alojada:** para su cálculo se uso la información del número de huevos producidos por cada repetición y el número de gallinas alojadas al inicio de la evaluación.

- **Peso del huevo** (g): Se determinó por pesaje de todos los huevos producidos por repetición durante un único día de la semana, empleándose una balanza con sensibilidad de un gramo. Se expresó como promedio del total de los huevos pesados.

- **Consumo de alimento:** se determinó semanalmente dividiendo el consumo total de alimento entre el número de aves por tratamiento, para obtener el promedio de consumo semanal y acumulado.

- **Conversión alimenticia por docena de huevo (Kg de alimento/Kg de huevo):** Se determinó con la misma frecuencia que el consumo de alimento y utilizando la información del consumo promedio del alimento y la producción promedio semanal de cada repetición y tratamiento.

- **Masa del huevo** (g): Para su cálculo se usó el peso promedio de los huevos multiplicado por el porcentaje promedio de postura de la semana. Se reportó como promedio semanal.

- **Ganancia de peso:** Se determinó por la diferencia entre el peso inicial y el final de las aves, dividido por la duración del periodo de evaluación.

- **Porcentaje de mortalidad:** Se determinó estableciendo la relación del número de aves muertas al final de la investigación con respecto al número de aves que iniciaron en cada tratamiento. Se diagnostica la causa de la muerte, cuando sea posible.

Cada uno de los parámetros fue medido y calculado semanalmente. Igualmente se reportó como promedio general para todo el periodo experimental.

- **Defectos visibles de la cáscara (%)**: Se determinó al momento de la recolección diaria de los huevos observándose por medio de ovoscopía buscando trizaduras (lineales ó estrelladas), roturas en la cáscara (se consideran los huevos picados por las gallinas) o ausencia de éstas (huevos en fárfara o solo con membranas testáceas). Se expresó como porcentaje de los huevos producidos.

- **Gravedad específica:** Se determinó en las semanas 0 (día 1), 5 y 10 de evaluación, mediante el método descrito por Hempe et al. (1998), consistente en colocar los huevos en baldes con soluciones de sal común (NaCl) y agua, con distinta densidad (1.084, 1.088, 1.092, 1.096, 1.100, 1.104), empezando por la menor y a medida que los huevos van flotando, se van retirando. Se considera como gravedad específica, la correspondiente a la de la primera solución en la que flote cada huevo. La densidad de las soluciones se midió con un densímetro con escala de 1.000 a 1.105.

- **Porcentaje de cáscara:** Se registró a la semana 1 (día 0), 5 y 10 del periodo experimental dos, mediante el muestreo de 3 huevos por repetición (1 huevo por jaula), los cuales fueron pesados y luego quebrados para determinar el peso de la cáscara, posterior a su lavado y secado al ambiente durante 24 horas. Se expresó como promedio.

- **Determinación de Cenizas, Calcio y Fósforo en cáscara de huevo:** Estas evaluaciones se realizaron en la semana 1 (día 0), 5 y 10 del periodo experimental dos. Se tomó al azar un (1) huevo por cada jaula (3 huevos por repetición). Las cáscaras de los huevos recolectados fueron lavadas con agua deionizada para retirar el exceso de albumina que pudiera quedar sobre ellas, para luego ser

secadas en estufa a 100°C por una noche. Posteriormente fueron trituradas con mortero, pesadas e incineradas en mufla a 550 °C por 24 horas. Se obtuvo su contenido de cenizas por diferencia de peso.

De las cenizas de las cáscara se tomó una alícuota de 0.1 g y se procedió como se describió anteriormente para las cenizas del hueso. Se determinó el contenido de calcio en cáscara como se describió anteriormente.

- **Contenido mineral en tibia**: El contenido de calcio, fósforo y cenizas en tibia de gallinas en producción, se efectuó como se indicó este procedimiento en pollitas de levante. Esto se realizó en ocho aves por tratamiento al final de la evaluación.

- **Evaluación Económica:** La rentabilidad de cada tratamiento se determinó evaluando el costo de producción de huevo por alimento exclusivamente contra el precio de venta promedio de los huevos producidos, para lo cual se emplearon las siguientes formulas:

  Costo de alimentación por ave = Consumo de alimento por ave (kg) X costo de kg de alimento ($).

  Costo de huevo= Costo de alimentación por ave ($) / porcentaje de postura (%)

3.3 PRACTICAS DE MANEJO

Durante el desarrollo del ensayo, las aves fueron sometidas a una serie de prácticas de manejo complementarios propios de la línea genética y a las que habitualmente se realizan en una explotación comercial, tanto durante el período de levante como de producción.

El agua de bebida estuvo disponible en todo momento, usando un bebedero de campana automático por cada corral durante el levante y un niple por jaula durante la producción. Las aves tuvieron acceso al alimento en todo momento y aunque la cantidad suministrada fue controlada, las aves no presentaron restricciones ni ayunos alimenticios.

Los galpones experimentales estuvieron bien ventilados y con buena luz acorde a lo recomendado en las prácticas de producción comercial y en ningún momento se presentaron situaciones ambientales adversas que pudieran afectar el normal desarrollo de las aves en sus diferentes estados fisiológicos.

En la primer semana de vida de las pollitas se realizó despique de precisión y corrección a la séptima (7) semana; se brindó calefacción durante el primer mes de vida de las pollitas por medio de criadoras con quemadores cilíndricos por infrarrojo.

Con relación al programa sanitario, las aves durante el periodo de levante tuvieron el siguiente programa de vacunación.

Tabla 3-6: Plan de vacunación aplicado a las pollas durante el levante

VACUNA	VIA	EDAD	
		SEM	DIAS
GUMBORO CEPA INTERMEDIA	AGUA	2	10
N. CASTLE + BRONQUITIS LA SOTA	OCULAR	2	14
GUMBORO CEPA INTERMEDIA	AGUA	3	21
N. CSTLE + BRONQUITIS LA SOTA	OCULAR	5	35
VIRUELA	ALAR	6	42
VIRUELA + ENCEFALO	ALAR	10	69
N. CASTLE + BRONQUITIS (SOTA)	OCULAR	11	76
PASTEURELLA + CORIZA	SUB.	14	97
N CASTLE+IB+EDS (INACTIVADA)	I.M	16	111

3.4 **Diseño experimental y análisis estadístico**

Para los análisis de parámetros productivos de los dos experimentos, así como para la densidad de los huevos, se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones por tratamiento, cuya descripción corresponde a :

$yij=\mu + \alpha i + €ij$

Donde:

μ = promedio general

α = tratamiento

€ = error experimental

Para las concentraciones de Calcio y cenizas en cascara, calcio, fosforo y cenizas en tibia y para el porcentaje de cascara en huevo se utilizo un diseño de medidas repetidas en el tiempo (parcelas divididas), donde los factores evaluados fueron tratamiento y el tiempo, considerando dentro del modelo como parcelas los tratamientos y como sub parcelas el tiempo, cuya descripción corresponde a:

$Yijkl = \mu + \alpha i + \beta j(\alpha) + \zeta k + (\alpha\zeta)ik + €l(ijk)$

Donde:

μ = promedio general

α = tratamiento

β = repetición

ζ = tiempo

$\alpha\zeta$ = interacción

€ = error experimental

Durante el periodo experimental de cría y levante (4 a 16 semanas de edad), cada repetición constó de 40 pollas, alojadas en un solo corral, lo que constituyó la unidad experimental. Para el periodo de producción (55 a 68 semanas de edad), cada repetición constó de nueve gallinas, alojadas en tres (3) jaulas con tres (3) gallinas cada una, lo que constituyó la unidad experimental.

En la determinación del estatus mineral en tibias, la unidad experimental estuvo constituida por la tibia izquierda y derecha de dos aves por repetición para el experimento de cría-levante y para la etapa de producción la unidad experimental estuvo conformada por la tibia izquierda y derecha de ocho gallinas por tratamiento.
Para la calidad del huevo porcentaje de cáscara, gravedad especifica y contenido mineral en cáscara, la unidad experimental estuvo conformada por tres huevos de cada repetición.

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANAVA), utilizando el programa SAS versión 9.0 (2004). Las variables con un efecto significativo ($p<0.05$), fueron comparadas con el test de rangos múltiples de Tukey (Steel y Torrie, 1980).

4. Resultados y discusión

4.1 Resultados del experimento Periodo de cría y levante

4.1.1 Resultados

Peso de las aves: Para el peso promedio de las aves (Tabla 4-1) no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) entre los tratamientos durante las trece semanas de evaluación.

Tabla 4-1. Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre el peso corporal promedio (gramos).

Semana	T 1	T 2	T 3	T 4	Peso ideal para la línea
4	244,50	245,83	252,58	251,25	260,00
5	382,67	374,67	378,00	381,16	340,00
6	514,67	498,33	517,67	510,00	420,00
7	589,83	580,67	592,17	591,16	530,00
8	672,50	645,33	681,50	670,33	640,00
9	826,50	810,83	826,67	830,16	760,00
10	951,00	937,50	946,50	944,16	870,00
11	1051,83	1051,50	1055,00	1061,16	980,00
12	1138,64	1117,26	1138,15	1152,65	1080,00
13	1220,00	1195,17	1213,00	1219,00	1180,00
14	1338,33	1302,00	1344,67	1328,33	1260,00
15	1394,17	1362,67	1390,17	1391,16	1340,00
16	1468,00	1444,00	1465,17	1468,50	1410,00
17	1501,17	1481,17	1501,83	1487,83	1470,00

Consumo de alimento: No se presento diferencia estadísticamente significativa al consumo de alimento en ninguno de los tratamientos, debido a que este parámetro estuvo controlado y la dosis suministrada fue igual para todas las aves del experimento.

Tabla 4-2. Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre el consumo, peso y la conversión acumulada a la semana 16

	T 1	T 2	T 3	T 4
Consumo acumulado	**5735**	**5735**	**5735**	**5735**
Peso acumulado	**1501,16**	**1481,16**	**1501,83**	**1487,83**
Conversión acumulada	**4,566**	**4,645**	**4,592**	**4,638**

No se presentó diferencia estadísticamente significativa para el consumo, peso y conversión acumulada ($p>0.05$) a la semana 16 en ninguno de los tratamientos.

Longitud de la canilla:

Tabla 4-3. Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3sobre la longitud de la canilla

Semana	**TRATAMIENTO**			
	T 1	**T 2**	**T 3**	**T 4**
4	5,59	5,56	5,60	5,58
8	8,00	7,91	8,00	7,98
12	9,54	9,40	9,53	9,55
16	10,13	9,97	10,05	10,09

No se presentó diferencia estadísticamente significativa para longitud de la canilla ($p>0.05$) en las diferentes semanas para ninguno de los tratamientos

Mineralización ósea:

Tabla 4-4. Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 Y 25 OH-D_3 sobre la concentración de minerales en tibia a la semana 12 de vida

Análisis	**TRATAMIENTO**			
	T 1	**T 2**	**T 3**	**T 4**
Cenizas	20,00	19,80	19,95	19,79
Calcio	37.87 a	37.26 ab	36.59 b	37,17 a
Fósforo	16,81	16,87	16,81	17,12

Valores con letras distintas, presentan diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$)

Las diferencias estadísticamente significativas presentadas en la semana 12, no se observaron en la semana 16 para la deposición de cenizas, calcio y fósforo entre los tratamientos (Tabla 4-5). Estos datos, sumados a la longitud de la canilla, confirman que el desarrollo e integración ósea con la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 en la dieta, fue igual al del tratamiento control y a la inclusión de la 25 OH-D_3 .

Tabla 4-5. Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 y 25 OH-D_3 sobre la concentración de minerales en tibia a la semana 16 de vida

Análisis	TRATAMIENTO			
	T 1	T 2	T 3	T 4
Cenizas	22,18	21,92	21,16	21,33
Calcio	38,25	39,15	38,03	38,71
Fósforo	17,30	17,21	17,21	17,20

No se presentó diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) sobre la concentración de minerales en tibia a la semana 16 de vida para ninguno de los tratamientos

Mortalidad: El porcentaje de mortalidad acumulado hasta la semana 16 de vida no presentó diferencia significativa entre tratamientos siendo de 3.33% para el tratamiento control, 4.58% para el tratamiento 2, 3.33 % para el tratamiento 3 y de 2.99 para el tratamiento 4.

4.1.2 Evaluación económica

Tabla 4-6: Efecto de la inclusión de la vitamina 1α OH-D_3 y 25 OH-D_3 sobre el costo de alimento para el periodo cría y levante

	Control	Alpha D_3 On Top	Alpha D_3 Matrizada	HyD On Top
Costo alimento inicio/ave	$ 1.045,97	$ 1.049,91	$ 1.043,82	$ 1,050,17
Costo alimento levante/ave	$ 3.786,94	$ 3.803,98	$ 3.772,62	$ 3,814,21
Costo Total de alimento/ave	$ 4.832,91	$ 4.853,89	$ 4.816,44	$ 4,864,38

La evaluación económica mostró un menor costo de la alimentación ($16.5/ave), cuando se incluyó la vitamina 1α OH-D_3 en el alimento y se formuló teniendo en cuenta su aporte de calcio y fósforo en la dieta (matrizada) comparándolo con el grupo control. Cuando se compara la inclusión de las dos biomoléculas sin matrizar, igualmente se observa una diferencia de $10.49/ave a favor de la 1α OH-D_3.

4.2 Resultados del Periodo de producción

Peso de las aves: No se presentaron diferencias significativas (p > 0, 05) para el peso inicial ni final de las aves (Tabla 4-7), indicando que la variación en el peso de las aves durante el periodo experimental fue similar para todos los grupos experimentales y que la inclusión de los cuatro tratamientos no influyó significativamente sobre este parámetro. En todos los grupos experimentales se observó pérdida de peso corporal en las aves, la cual varió en 3,7 y 5,0% de su peso inicial.

Tabla 4-7. Peso de las aves (g) y porcentaje de postura (%)

Tratamiento	Peso inicial	Peso final	% de postura promedio
T 1	2134	2055	84.3
T 2	2153	2068	82.0
T 3	2133	2027	88.3
T 4	2130	2022	86.1

Porcentaje de postura: Los tratamientos evaluados no estuvieron asociados con diferencias significativas en el porcentaje de postura de las aves (P > 0,05). (Tabla 4-7)

Conversión alimenticia por docena de huevo: No se encontraron diferencias estadísticamente significativa en la conversión alimenticia (P>0,05), para ninguno de los tratamientos (tabla 4-8).

Tabla 4-8: conversiones reales vs esperadas en producción

Tratamiento	Conversión acumulada real	Conversión acumulada esperada	Mortalidad % acumulada
T 1	1.66	1.56	0
T 2	1.71	1.56	0
T 3	1.59	1.56	3.3
T 4	1.63	1.56	1.1

Mortalidad acumulada: No se presentaron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) en la mortalidad acumulada, indicando que ninguno de los tratamientos evaluados influyó en el comportamiento de este parámetro (tabla 4-8).

Calidad de huevo: No se encontraron diferencias significativas (p = 0.31) en el porcentaje de huevos malos (no vendibles), tomados como la suma de rotos, frágiles y en fárfara (tabla 4-9). Sin embargo, hubo un rango muy amplio en este parámetro, yendo de 2,83% en el tratamiento 3 a 7,17% en el tratamiento 4.

Tabla 4-9. Huevos no vendibles y vendibles con su clasificación en cada tratamiento

Tratamiento	Huevo de baja calidad No vendibles	% de huevos vendibles		
		Extra	AA	A
T 1	3.83	29.33[b]	39.66	31.02[b]
T 2	5.17	31.19[a]	36.73	32.07[b]
T 3	2.83	23.40[c]	41.29	35.30[ab]
T 4	7.17	23.78[c]	36.75	39.47[a]

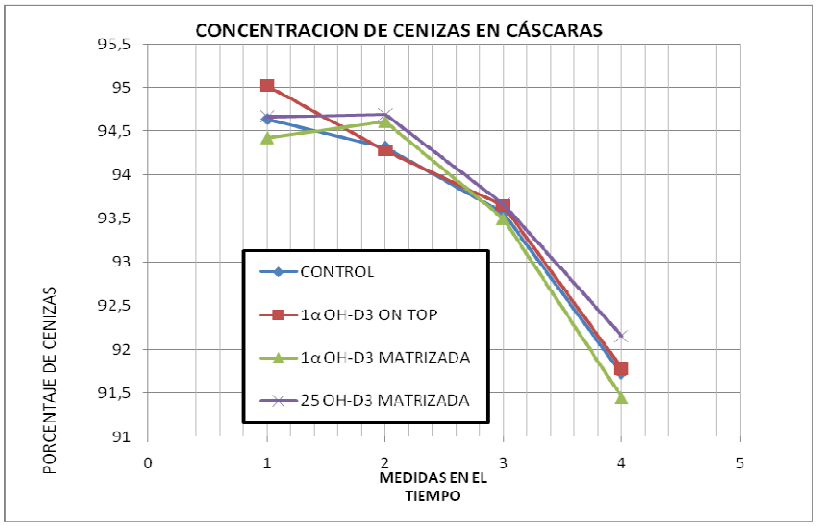
Valores con letras diferentes presentan diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$)

Clasificación de huevos: Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) para el porcentaje de huevos extra y huevos A, a lo largo de la evaluación, y una tendencia numérica para el porcentaje de huevos AA ($p=0.09$), sin presentarse diferencias por el efecto de la sub parcela (cada una de las mediciones en el tiempo). El tratamiento 2 presento un mayor porcentaje de huevos extra durante toda la evaluación, seguido por el tratamiento 1 y finalmente los 3 y 4, este último fue el que presento el mayor porcentaje de huevos A (tabla 4-9).

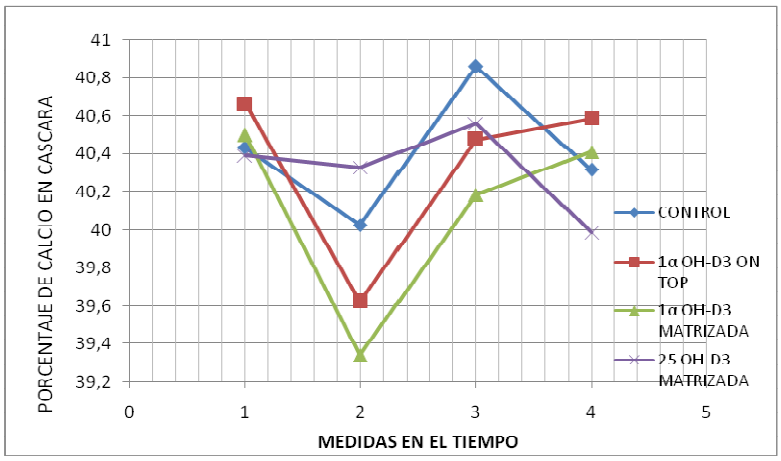
Minerales en cáscara: No se presentaron diferencias significativas en la concentración de cenizas ($p=0.35$) ni de calcio en cascara ($p=0.33$) para ninguno de los tratamientos a lo largo de la evaluación (se tomaron cuatro muestras con intervalos de un mes cada una). Esto indica que todos los

tratamientos presentaron una adecuada mineralización de la cascara a lo largo del periodo de evaluación, aunque tendió a disminuir a medida que avanzó el período de evaluación (Gráficas 4-1 y 4-2)

Grafica 4-1. Variación en la concentración de cenizas en cascaras de huevo en los diferentes tratamientos.



Grafica 4-2. Variación en la concentración de calcio en cáscaras de huevo en los diferentes tratamientos



Minerales en hueso: No se presentaron diferencias estadísticamente significativa (p>0.05) para ninguno de los tratamientos en el contenido de cenizas, calcio, ni fósforo en las muestras de tibia. Indicando una mineralización similar en todos los tratamientos.

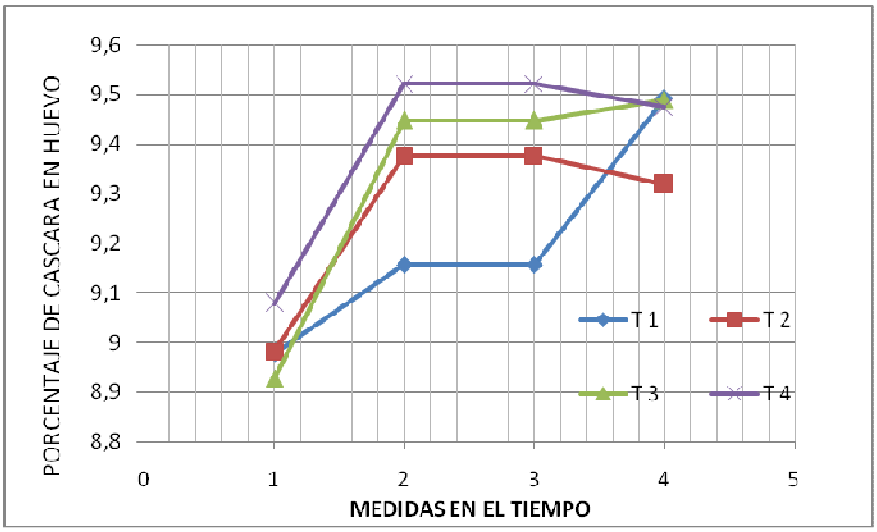
Tabla 4-10: Concentración de calcio, fósforo y cenizas en tibias (%)

Tratamiento	Cenizas	Calcio	Fósforo
T 1	21.31	37.24	15.12
T 2	21.37	37.37	14.75
T 3	20.35	37.38	15.44
T 4	20.41	37.22	15.33

Valores con letras diferentes presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

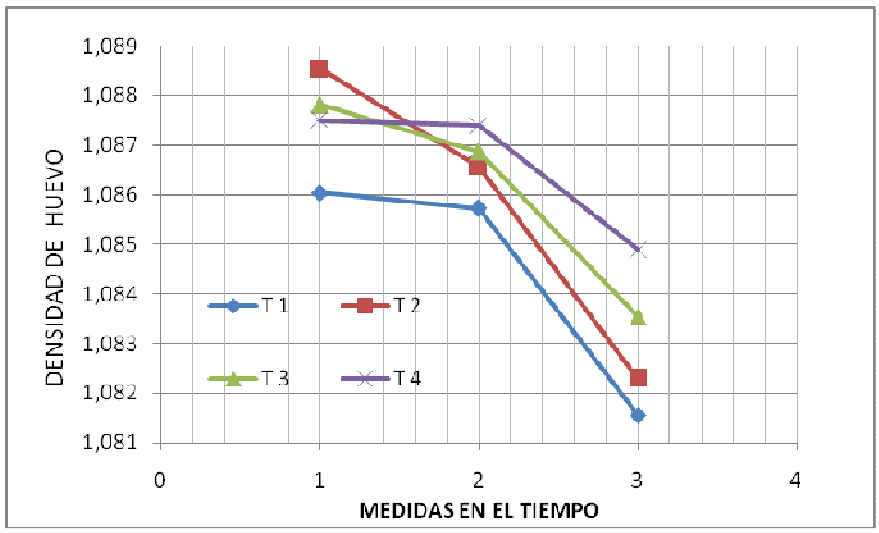
Porcentaje de cáscara en huevo: No se presentaron diferencias para este parámetro entre los tratamientos a lo largo de la evaluación (P=0.21), mostrando una deposición de cáscara similar, con una tendencia generalizada a aumentar a lo largo de los cuatro meses evaluados (Grafica4-3)

Grafica 4-3: Porcentaje de cáscara en huevo



Densidad de huevos: Se presentó una reducción de la densidad de los huevos a lo largo del periodo experimental ($p<0.001$) para todos los tratamientos, pero no se encontraron diferencias significativas ($p=0.46$) entre los tratamientos durante todo el periodo de evaluación (grafica 4-4). Esto indica que los tratamientos presentaron un comportamiento adecuado frente al grupo control, sin que ninguno de ellos disminuyera la calidad de este parámetro lo que asegura una adecuada vida de anaquel del producto final

Grafica 4-4: Variación en la densidad de huevo de los diferentes tratamientos



Análisis económico: Al realizar la evaluación de los costos en los que se incurrió por la utilización de la vitamina 1α OH-D_3 y 25 OH-D_3 en la dieta Vs el beneficio económico generado en los diferentes parámetros productivos evaluados, se encontró un beneficio neto de **$ 12.7/día** para el tratamiento 3 en donde se matrizó el 1α OH-D_3, seguido del tratamiento de 25 OH-D_3 con $ 2.6/día y por último el tratamiento con el 1α OH-D_3 on top que generó una reducción de la utilidad de $ 9 /día (Tabla 4-11). Es posible que no se haya encontrado el benéfico esperado con el 1α OH-D_3 on top, debido a que el alimento presentó unas concentraciones suficientes de Calcio y fósforo, con lo que una absorción extra de estos nutrientes no se vio reflejada en un beneficio económico.

Tabla 4-11. Evaluación económica del costo beneficio de huevo/ave/día

Parámetro	Control	1α OH-D3 On top	1α OH-D3 matrizada	25 OH-D3
Alimento g ave/día	116.6	116.6	116.6	116.6
Costo kg($)	831	835	830	831
costo alimento día($)	96.9	97.3	96.8	96.9
% de postura	84.3	82.0	88.3	86.1
Costo por huevo($)	**114.9**	**118.8**	**109.6**	**112.6**
% huevo normal	80,5	76.8	85.5	78.9
Huevo extra (% de huevo normal)	29.3	31.2	23.4	23.8
Huevo AA (% de huevo normal)	39.7	36.7	41.3	36.8
Huevo A (% de huevo normal)	31.0	32.1	35.3	39.5
Huevos de baja calidad, %	3.83	5.16	2.83	7.17
Precio huevo Extra($)	185	185	185	185
Precio huevo AA($)	180	180	180	180
Precio huevo A($)	175	175	175	175
precio huevo baja calidad($)	110	110	110	110

Ingresos por venta de huevo($)	**Control**	**1α OH-D3 On top**	**1α OH-D3 matrizada**	25 OH-D_3
Extra	43.7	44.3	37.0	34.7
AA	57.5	50.8	63.5	52.2
A	43.7	43.1	52.8	54.5
baja calidad	4.2	5.7	3.1	7.9
Total ingresos por huevo	149.0	143.9	156.5	149.3
Utilidad neta ($/huevo)	**34.1**	**25.1**	**46.8**	**36.7**
Diferencia Vs Control ($/huevo)	**0.0**	**-9.0**	**12.7**	**2.6**

Discusión

El peso de las aves en los dos experimentos realizados tanto para el periodo de cría-levante como durante la fase de producción, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$); Lo que indica que los niveles de calcio y fósforo de las diferentes dietas no afectaron significativamente la ganancia de peso de las aves. Al comparar el peso ideal que recomienda la línea Lohmann Brown con el peso obtenido a lo largo de la evaluación, se observa que los diferentes tratamientos presentaron un peso superior al recomendado por la casa comercial durante todo el periodo de evaluación, confirmando así, que las dietas fueron formuladas adecuadamente. Es importante anotar que el peso corporal en el levante de ponedoras es de gran importancia debido a la influencia que este tiene sobre la posterior producción de huevos de las aves.

De igual no se presento diferencia estadísticamente significativa para las variables consumo y conversión en cualquiera de los tratamientos; es probable que esto se deba a que se controló el consumo de alimento suministrándose la misma cantidad de alimento a todas las aves de todos los tratamientos. Contrario a este resultado, trabajos realizados por Edwards et al (2002) comparando la 1α OHD_3 con la vitamina D_3, (que en este experimento es el grupo control) en pollitos de 0 a 16 días de vida reportaron efecto significativo en el peso de las aves, concluyendo que la 1α OHD_3 es mucho más potente que la vitamina D_3. A los 16 días el consumo y la conversión alimenticia también mostraron influencia significativa.

Similares resultados a los de Edwards (2002) fueron reportados por Driver et al (2005), quienes usaron las misma concentración de 1α OHD_3 (5µg/kg) con Natuphos® en la dieta de pollitos de engorde durante la fase de iniciación y engorde e indicaron que la fitasa mas la 1 alfa se comportaron bien durante la fase de cría o levante, pero mucho mejor es la respuesta en ganancia de peso y conversión alimenticia cuando esta combinación es usada durante las fases de iniciación y engorde. Sin embargo la ganancia de peso, el consumo y la conversión alimenticia, no fue significativo para aquellos pollitos que fueron alimentados con dietas con fitasa y 1α OHD_3 deficientes en calcio y fósforo.

Se ha demostrado que la 1α OHD_3 mejora el aumento de peso, y la conversión alimenticia además de la retención de fósforo y mejora la concentración de cenizas óseas en pollitos alimentados con dietas deficientes de fósforo (Biehl et al, 1995; Biehl y Baker 1997 a,b; Edwards, 2002).

Evaluaciones realizadas en pollo de engorde han concluido que la adición de la 1α OHD_3 en la dieta basal tuvo efectos negativos sobre la ganancia de peso, lo que indica que la 1α OHD_3, no pudo mejorar el crecimiento de los pollos de engorde cuando la dieta en sus contenidos de fósforo no fítico ara mayor a 2,9 g/kg y la vitamina D3 era abundante (Browse Han, et al., 2009).

Trabajos reportados por Biehl et al (1998) encontraron efectos significativos en la ganancia de peso de pollitos alimentados con dietas deficientes en fósforo y niveles adecuados en vitamina D_3 donde las aves respondieron positivamente a los aumentos en la suplementación de la 1α OHD_3 en concentraciones mayores a 7,5µg/kg.

Suficiente información se ha desarrollado en la cual se refleja una mejora significativa ($p<0,05$) en los parámetros ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia de las aves con la inclusión en la dieta de la 1α OHD_3, en pollitos tipo Broiler en su fase inicial o finalización, pero no en gallinas ponedoras ya sea en su etapa de cría, levante o producción.

De hecho algunos autores han encontrado respuestas positivas en la ganancia de peso de las aves en concentraciones de la 1α OHD_3 mayores a las utilizadas en este trabajo.

Con respecto a los resultados de longitud de la canilla, niveles adecuados de calcio y fósforo en la dieta tienen gran importancia sobre el desarrollo de los huesos, lo que a su vez en aves de postura determinan en gran medida la óptima producción de huevos, la viabilidad durante la etapa productiva de las aves y tiene un impacto directo sobre la calidad de la cáscara. Una de las formas de medir el óptimo desarrollo de los huesos es a través de la longitud de la canilla del ave, el cual se realizó en el presente trabajo en las semanas 4, 8, 12 y 16 de vida, sin encontrarse diferencia estadística entre los tratamientos ($p>0.05$). No se encontró reportes de resultados de investigaciones que haya medido esta variable.

Para las variables producción de huevos y calidad de los mismos, no se encontró efecto ($p>0,05$) en porcentaje de postura, conversión por docena de huevos, calidad del huevo en términos de fragilidad de la cáscara, porcentaje de cascara y densidad de huevos en ninguno de los cuatro tratamientos del experimento dos.

Estos resultados son similares a los encontrados por Abdulrahim en 1979, donde la producción de huevos, el peso de la cáscara del huevo, el peso del huevo y el porcentaje de huevos con cáscara frágil fue similar en todos los tratamientos con gallinas Leghorn blancas de 21 semanas de vida donde se compararon diferentes concentraciones de vitamina D_3, 25OHD_3, 1,25$(OH)_2D_3$ y 1α OHD_3 durante 13 semanas.

De igual manera Snow y colaboradores en el 2004, reportaron que la producción de huevos de las gallinas HLW98 alimentadas con cualquier nivel de 1α OHD_3 (2,5;5,0 y 10 µg/kg) desde la semana 44 a la 52 de vida, disminuyó rápidamente después de la semana 48 y a la semana 52 se redujo para todos los tratamientos de 1α OHD_3 comparados con el grupo control positivo (dieta basal + 0,35% de fósforo inorgánico). Tampoco se presentó respuesta significativa con el uso de ninguno de los diferentes niveles de 1α OHD_3 para la gravedad de la cáscara medida como gravedad especifica. Para esto los autores consideran que la falta de respuesta se pudo deber a que las dietas tenían concentraciones adecuadas de calcio y vitamina D; consideran al final que se habría podido haber presentado una respuesta positiva en la calidad de la cáscara si las gallinas usadas hubieran sido de mayor edad, sin embargo en este experimento se usaron gallinas de 55 semanas y hasta la semana 68 pero sin respuesta significativa para 5µg/kg de 1αOHD_3 en el alimento.

Keshavarz (2003) reportó que la sustitución de la vitamina D_3, por la 25-OH-D_3, no produjo ningún efecto benéfico sobre la calidad de la cáscara en ninguno de los experimentos con gallinas ponedoras; en el 2001 Garcia y colaboradores reportaron efecto favorable a uso de la 25-OH-D_3 para el grosor de la cáscara en gallinas Isa Babckock durante primer y segundo ciclo, pero la adición de la 25OHD_3 no tuvo efecto favorable sobre las variables productivas: porcentaje de postura, peso del huevo, índice de conversión, consumo de alimento, unidades Haugh y color de la yema.

Para los parámetros de mineralización ósea como: minerales en hueso, concentración de calcio y fósforo y cenizas, no se encontraron diferencias ($p>0,05$) con la adición de la 1αOHD_3 o la 25OH-D_3 durante el levante ni finalizando el ciclo productivo.

Es probable que con concentraciones mayores de 1αOH-D_3, se pudiera obtener resultados más favorables a la mineralización ósea, ya que se ha podido establecer que gallinas alimentadas con dietas a base de maíz y torta de soya deficientes en fósforo (0,1%) con aumentos graduados de 1αOH-D_3 (5 a 40 µg/kg de alimento), da como resultado un aumento marcado en las cenizas en tibia y en el crecimiento (Biehl, et al., 1995; Snow, et al., 2004). Sin embargo en éste experimento se siguieron las recomendaciones de los fabricantes de las moléculas para las dietas de gallinas ponedoras.

Abdulrahim (1979) reportó que la 1αOH-D_3 posee marcada eficiencia en prevenir la discondroplasia tibial cuando es administrada a concentraciones de 10 µg/kg en dietas a base de maíz y soya (Edwards, 1983,1994; Rennie, et al 1996);

Sin embargo en pollo de engorde Browse Han et al (2009), reportaron que la 1αOHD_3 y la fitasa en la dieta puede aumentar significativamente la calidad de huesos en pollo de 21 días de edad, al igual que el peso de las cenizas, el contenido de calcio y fósforo en tibias y la resistencia a la fractura de las tibias con la suplementación de 1αOH-D_3 ($p<0,001$), comparadas con dietas normales. Estos datos concuerdan con lo reportado por Biehl et al. (1995); Biehl y Baker (1997 a,b),; Edwards et al. (2002); y Snow et al. (2004). esto no se presento en el presente trabajo posiblemente debido al poco tiempo que se suministró a las gallinas, las cuales requieren altas dosis de calcio y fósforo para la formación de la cáscara del huevo. La resistencia de la tibia a fracturas y el contenido de calcio y fósforo mejoran con la adición dietaria de la 1αOHD_3. Edelstein et al (1978), informaron que la 1αOHD_3 se metaboliza a 1,25$(OH)_2D_3$ en el tejido intestinal y hueso y que la forma hormonal facilita la absorción y retención de calcio y fósforo, mejorando la resistencia de la tibia a la fractura (Tanaka et al 1971, 1972); aunque fueron trabajos hechos en pollo de engorde se sugiere evaluar ésta la absorción intestinal de esta molécula en gallinas ponedoras. La concentración de calcio y fósforo en el plasma tiende a incrementarse con la adición de la 1αOHD_3 (Haussler, et al .1973; Edwards 2002) en pollos, sin embargo esto no se midió en este experimento, ni hay suficiente información de trabajos realizados con gallinas sobre todo en las etapas de producción finalizando el ciclo, donde la movilización de calcio hacia el huevo es muy alto y las aves según su sistema de alojamiento, tienden a sufrir de fatiga de jaula y fragilidad de la cáscara.

Otros trabajos como los reportados por Biehl y Deluca (1995) indicaron que con dosis graduales entre 0 y 20 µg/kg, de 1αOH-D_3 se produjo una respuesta lineal ($p<0,001$) en peso de tibia, concentración de ceniza en tibia, y el total del peso de la ceniza de la tibia. Sin embargo estos trabajos fueron en pollos y concentraciones de 1αOH-D_3 mayores a las usadas en este experimento.

No se evaluó en este estudio lo que otros autores han reportado con respecto a que la 1αOH-D_3 con o sin fitasa en dietas para animales, posee un gran potencial para disminuir los niveles de suplementación de fósforo y disminuir la contaminación que este elemento causa al ambiente por los niveles excesivos del fósforo en los residuos animales.

Conclusiones

- El uso de la vitamina 1αOH-D_3 (Alpha D_3) matrizada o sin matrizar dentro de la formulación, no mostró diferencias en los parámetros zootécnicos evaluados, con respecto al tratamiento control o 25OH-D_3 (HyD).

- La vitamina 1αOH-D_3 actuó efectivamente en la deposición de minerales en hueso, permitiendo una deposición normal en las aves, similar a la mineralización encontrada en el tratamiento control y con el tratamiento 25OH-D_3.

- La inclusión de la 1αOH-D_3 permite reducir los niveles de inclusión de Calcio y Fósforo en las dietas de inicio y levante de ponedoras comerciales así como en su etapa de producción.

- La inclusión de la vitamina 1αOH-D_3 matrizada en las dietas de inicio y levante de ponedoras representa una reducción en el costo de alimentación por ave de $16.47 sin afectar los parámetros productivos.

- Los resultados encontrados en la presente evaluación, no demostraron que el uso de la vitamina 1αOH-D_3 o la 25OH-D_3 mejoraron los parámetros zootécnicos, de calidad del huevo o mineralización ósea.

- El uso de la vitamina 1αOH-D_3 matrizada mostró un beneficio económico neto, representado en, mayor porcentaje de producción, menor porcentaje de huevos de baja calidad y menor costo de alimentación. No se presentó diferencia en las concentraciones de minerales en hueso ni en huevo, indicando una mineralización similar para todos los tratamientos.

- No se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos para ninguno de los parámetros zootécnicos evaluados. Se presentó el mejor beneficio económico con el uso de la vitamina

$1\alpha OH\text{-}D_3$ matrizada, con el menor costo de producción y el mayor ingreso por ventas de huevo.

- El autor recomienda para futuras investigaciones de la vitamina $1\alpha OHD_3$ en dietas de gallinas niveles de inclusión mayores a los usados en este experimento para cualquiera de sus etapas fisiológicas, de igual manera evaluar dietas con diferentes concentraciones de calcio para esta molécula. Como existe muy poca información con gallinas ponedoras o gallinas reproductoras se recomienda trabajar más con éstas especies, ya que la fatiga de jaula, la fragilidad de la cáscara al final del ciclo productivo y la contaminación ambiental por excesos de fósforo en la dieta de las aves, representan pérdidas millonarias a la industria avícola nacional y mundial.

Referencias

Abdulrahim. S.M., Patel.M.B. andMcGinnis.J. 1979. Effects of Vitamin D3 and D3 Metabolites on Production Parameters \ and Hatchability of Eggs Poultry Science 58:858-863.

Agudelo González, G., 2008. Fundamentos de nutrición animal aplicada. Ciencia y tecnología. Ed. Universidad de Antioquia; 96-98

Ameenuddin, S., M.L. Sunde, and M.E. Cook, 1985. Essentiality of vitamin D3 and its metabolites in poultry nutrition, A review. World Poult. Sci. J. 41:52

Ameenuddin, S., M.L. Sunde, H.K. Deluca, N.Ikekawua, and Y. Kobayashi. 1982- 24 hidroxilation of 25-hidroxivitamin D3: Is it required for embryonic development in chicks Science 217:451

Applegate, TJ; Angel, R; Classen, HL. 2003. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. Poultry Science 82:1140-1148

Armen, T.A., Gay, C.V., 2000. Simultaneous detection and functional response of testosterone and estradiol receptors in osteoblast plasmamembranes. J. Cell. Biochem. 79, 620–627.

Association of Official Analytical Chemists, 1995. Animal feeds. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., P: 27.

Atencio. A., Edwards Jr. H.M., Pesti. G.M., and Waret. G.O. 2006. The vitamin D3 Requierement of broiler breeders. Poultry science 85: 674-692.

Bar, A., Hurwitz, S., 1973b. Uterine calcium-binding protein in the laying fowl. Comp. Biochem. Physiol. A 45, 579–586.

Bar, A., Hurwitz, S., Edelstein, S., 1975. Response of renal calcium-binding protein. Independence of kidney vitaminDhydroxylation. Biochim. Biophys. Acta 411,106–112.

Bar, A., Sharvit, M., Noff, D., Edelstein, S., Hurwitz, S., 1980. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds. J. Nutr. 110, 1930–1934

BAR, A.; VAX, E.; STRIEM, S. 1999. Relationships among age, eggshell thickness and vitamin D metabolism and its expression in the laying hen. Comparative Biochemistry and Physiology, v.123, p.147-154, (Part A)

Barroeta, A; Calsamiglia, S; Cepero, R; Lopez-Bote, C; Hernández, JM. 2002. Óptima nutrición vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad: avances en la nutrición vitamínica de broilers y pavos. España. Editorial Pulso. 208 p.

Beatle, P.C. 19777. The Epidermal biosynthesis of Cholicalciferol (Vitamin D3). Photochem-Photobiol 25:519

Biehl, R. R., and D. H. Baker. 1997a. 1α-hydroxycholecalciferol does not increase the specific activity of intestinal phytase but does improve phosphorus utilization in both cecectomized and sham-operated chicks fed cholecalciferol-adequate diets. J. Nutr. 127:2054–2059.

Biehl, R. R., and D. H. Baker. 1997b. Utilization of phytate and nonphytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D3. J. Anim. Sci. 75:2986–2993.

BIEHL, R. R., BAKER D H., DELUCA, F. 1998. Activity of various hydroxylated vitamin D3 analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D3. British Poultry Science Ltd. (1998) 39: 408-412.

Biehl, R. R., D. H. Baker, and H. F. DeLuca. 1995. 1α-Hydroxylatedcholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. J. Nutr. 125:2407–2416.

Bloom, M.A., McLean, F.C., Bloom,W., 1942. Calcification and ossification: the formation of medullary bone in male and castrate pigeons under the influence of sex hormones. Anat. Rec. 83, 99–120.
Boris, A., J. F. Hurley, and T. Trmal. 1977. Relative activities of some metabolites and analogs of cholecalciferol in stimulation of tibia ash weight in chicks otherwise deprived of vitamin D. J. Nutr. 107:194–198.

Brown, E.M. 1991. Extracellular ca^{2+} sensing regulation of parathyroid cell function and role of ca^{2+} and other ions as extracellular (first) messengers. Physiological reviews. 71: 371-411

Browse Han, J.C.; Yang, X.D.; Zhang, L.M.; Li, W.L.; Zhang, T.; Zhang, Z.Y.; Yao, J.H. 2009.Effects of 1 alpha-hydroxycholecalciferol and phytase on growth performance, tibia parameter and meat quality of 1- to 21-d-old broilers. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 22, No. 6 : 857 – 864 June 2009

Calabotta, D. 1997. El uso de 25-OH-D3 puede mejorar el rendimiento de las aves. Feedstuffs 76:1-4.

Castillo, L. Tanaka, M.J. Winelond, J.O. Jowsey, and H.F Deluca.1979. Production of 1,25 dihridroxy vitamin D3 and formation of modullary bone in the egg-laying hem-Endocrinology 104: 1598.

Church, D; Pond, W. 1987. Basic animal nutrition and feeding. TraductionPerez LJ. México, DF. Editorial Limusa. 438 p.

Clark, N.B, M.I, Murphy, and S.K.Lee. 1989. Ontogeny of vitamin D action on the morphology and calcium transport properties of the chick embryonic yolk Sas Sac. J. Dev. Physiol. 11:243

Corradino, R. A., R. H. Wasserman, M. H, Pubols, and S. I. Chang, 1968. vitamin D3 induction of a calcium-binding protein in the uterus of the laying hen. Arch. Biochem. Biophys. 125:378-380.

Coty, W. A. 1980- A specific, high affinity binding protein for 1,25-dihidroxy vitamin D in the chick oviducts sshella gland. BiochemBiophys-Res.Commun 93:285

Dacke, C.G., 1976. Parathyroid hormone and eggshell calcification in Japanese quail. J. Endocrinol. 71, 239–243.

Dacke, C.G., Arkle, S., Cook, D.J., Wormstone, I.M., Jones, S., Zaidi, M., Bascal, Z.A., 1993. Medullarybone and aviancalciumregulation. J. Exp. Biol. 184, 63–88.
DE LUCA, H.F. 1972. Metabolites of vitamin D: new tools of medicine and nutrition. Proceedings of Cornell Nutrition Conference, p.20-24.

De Luca, L. 2008. Calcio, fósforo, vitamina D y parathormona. Burneo laboratorios S.A. http://www.engormix.com/s_articles_view.aspart=269

DeLuca, H.F., Nakada, M., Tanaka, Y., Sicinski, R., Phelps, M., 1988. The plasma binding protein for vitamin D is a site of discrimination against vitamin D-2 compounds by the chick. Biochim. Biophys. Acta 965, 16–21.

Dhesi J.K, Bearne L.M, Moniz C, Hurley, M.V, Jackson, S.H, Swift, C.G, Allain, TJ. 2002. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. J Bone Miner Res; 17: 891–897.

Driver, J. P., Pesti, G. M., Bakalli, R. I., Edwards, jr. 2005. Phytase and 1α-Hydroxycholecalciferol Supplementation of Broiler Chickens During the Starting and Growing/Finishing Phases. Poultry Science 84: 1616-1628.

Edelstein, S., D. Noff, D. Freeman, M. Sheves and Y. Mazur. 1978. Synthesis of lα-HydroxyCholecalciferol and its metabolism in the chick. Biochem. J. 176:111-117.

Edwards, H. M., Jr., 1993. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytase utilization in chickens. J. Nutr. 123:567–577.

Edwards, H. M., Jr., and J. R.Veltmann, Jr. 1983. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibialdyschondroplasia in young chickens. J. Nutr. 113:1568–1575

Edwards, H. M., Jr., M. A. Elliot, S. Sooncharernying, and W. M. Britton. 1994. Quantitative requirement for cholecalciferol in the absence of ultraviolet light. Poult. Sci. 73:288–294.

Edwards, H. M.; Shirley, Jr. R. B. Escoe, W. B. and Pesti G. M. 2002. Quantitative Evaluation of 1-α-Hydroxycholecalciferol as a Cholecalciferol Substitute for Broilers. Department of Poultry Science, University of Georgia Athens, Georgia. Poultry Science 81:664–669

Eisman, JA; Shepard, RM; DeLuca, HF. 1977. Determination of 25-hydroxyvitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D3 in human plasma using high pressure liquid chromatography. AnalythicalBiochemistry 80:298-305

Eliam, M.C., Basle, M., Bouizar, Z., Bielakoff, J., Moukhtar, M., de Vernejoul, M.C., 1988. Influence of blood calcium on calcitonin receptors in isolated chick osteoclasts. J. Endocrinol. 119, 243–248.

Frost TJ, Roland DA. 1990. Influence of vitamin D_3, 1 alfa-hidroxyvitamin D_3, and 1,25-hidroxyvitamin D_3 on eggshell quality, tibian strength, and various production parameters in commercial laying hens. Poultry Sci.; 69: 2008 – 2016.

Garcia, M., Morales, R., Avila, E. Sanchez, E. 2001. Mejoramiento de la calidad del cascarón con 25 hidroxicolecalciferol (25-OH-D_3) en dietas de gallinas de primer y segundo ciclos. Veterinaria México, julio – septiembre, año/vol. 32, número 003. P: 167-174.

Gerald F. Combs, Jr., 2008. The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Elsevier Academic Press Third Edition cap 6. P:145

Griffin, H.D., 1992. Manipulation of egg yolk cholesterol — a physiologist's view. World Poult. Sci. J. 48, 101–112.

Haddad, JG; Walgate, J. 1976. 25-hydroxyvitamin D transport in human plasma. Journal of BiologicalChemistry 251:4803-4809

Haussler, M. R., J. E. Zerwekh, R. H. Hesse, E. Rizzardo, and M. M. Pechet. 1973. Biological activity of 1-α-hydroxycholecalciferol, a synthetic analog of the hormonal form of vitamin D3. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70:2248–2252.

Hempe, J.M., Lauxen, R.C., Savage, J.E. (1988) Rapid determination of egg weight and specific gravity using a computerized data collection system. Poult Sci 1988;67:902-7

Hurwitz, S., 1996. Homeostatic control of plasma calcium concentration. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 31, 41–100.

Hurwitz, S., Bar, A., 1966. Rate of passage of calcium-45 and yttrium-91 along the intestine, and calcium absorption in the laying fowl. J. Nutr. 89, 311–316.

Jande, S.S., Tolnai, S., Lawson, D.E., 1981. Immunohistochemical localization of vitamin D-dependent calcium-binding protein in duodenum, kidney, uterus and cerebellum of chickens. Histochemistry 71, 99–116.

Kaetzel, D.M.J., Soares, J.H.J., 1984. The effects of dietary cholecalciferol steroids and gonadal hormone implantation on plasma 1,25-dihydroxycholecalciferol and bone calcification in preovulatory and senescent female Japanese quail. Nutr. Res. 4, 621–632.

Kanis, J.A., 1982. Vitamin D metabolism and its clinical application. Ed. British editorial society of bone and joint surgery. Vol 64-B N 5, p 542

Keshavarz, K., 2003. A Comparison Between Cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on Performance and Eggshell Quality of Hens Fed Different Levels of Calcium and Phosphorus. 2003 PoultryScience 82:1415–1422

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. 1997. Commercial poultry nutrition 2.ed. Guelph: University Books, 350p.

Leichtmann, GA; Bengoa, JM; Bolt, MJG; Sitrin, MD. 1991. Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in patients with both Crohn's disease and intestinal resection. American Journal of ClinicalNutrition 54:548-552

Long, P. H., S. R. Lee, G. N. Rowland, and W. M. Britton, 1984. Experimental rickets in broilers: Gross, microscopic, and radiographic lesions. II. Calcium deficiency. Avian Dis. 28: 921–932.

M.L Scot, R.J. YOUNG, M.C.NESHEIM. 1973. Alimentación de las aves.ED. GEA Barcelona p:143

Maynard, L.A. 1981. Nutrición animal Ed: McGrawHill. México P: 318

McCollum, E. V., N. Simonds, J. E. Backer and P. G. Shipley. 1922. Studies on experimental rickets. Xxi. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. J. Biol. Chem. 53: 293

METHOD # 130.2. Hardness, Total (mg/L as CaCO3) (Titrimetric, EDTA)NPDES. 1978. Editorial Revisión

METHOD #: 310.1 NPDES. 1978. Editorial Revisión
Miller, S.C., 1992. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen. In: Whithead, C.C. (Ed.), Bone biology and skeletal disorders in poultry, vol. 23. Abingdon, Carfax, pp. 103–116.

Miranda, D. C; Leiva,L. B; León S., J.P; Maza C, M.2009. Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. RevChilNutr Vol. 36, Nº3, Septiembre 2009. P: 269-277

Mitchell, R. D. and H. M. Edwards, Jr. 1996. Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. Poult. Sci. 75:95–110.

Mitchell. R.D. and Edwards Jr. H.M. 1996. Additive effects of 1,25-dihidroxycholecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. Poultry science 75: 111-119.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of poultry. 9.rev.ed. Washington: National Academy Press, 1994. 155p.

Negri, A. L.; Fradinger. 2005. Nuevos factores que intervienen en la regulación de la 1 alfa hidroxilasa renal de la vitamina D. NEFROLOGÍA. Volumen 25. Número 6.

Nelson, T. S. 1976. The hydrolysis of phytate phosphorus by Newbrey, J.W., Truitt, S.T., Roland, D.A., Frost, T.J., Untawale, G.G., 1992. Bone histomorphometry in 1,25(OH)2D3- and vitamin D3-treated aged laying hens. AvianDis. 36, 700–706.

Newbrey, J.W., Truitt, S.T., Roland, D.A., Frost, T.J., Untawale, G.G., 1992. Bone histomorphometry in 1,25(OH)2D3- and vitamin D3-treated aged laying hens. Avian Dis. 36, 700–706.

Newman, S., Leeson, S., 1999. The effect of dietary supplementation with 1,25-dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. Poult. Sci. 78, 85–90

Noff, D., Simkin, A., Edelstein, S., 1982. Effect of cholecalciferol derivatives on the mechanical properties of chick bones. Calcif. Tissue Int. 34, 501-505
Omdah, J.L. and DeLuca , H.F. 1973. Regulation of vit D metabolism and function. Physiological review. 53: 327-372

Pfeifer, M., Begerow, B., Minne, H.W., 2002. Vitamin D and muscle function. OsteoporosInt. 2002;13: 187–194

Quintana. J.A. 2008. Fatiga de jaula: prevencion y control.http://www.wattpoultry.com/IndustriaAvicola/Article.aspx?id=2834

Ramasamy, I., 2006. Recent advances in physiological calcium homeostasis. Clin. Chem. Lab. Med. 44, 237–273.

RENNIE, J.S. y WHITEHEAD, C.C. (1996) Effectiveness of dietary 25- and 1-hydroxycholecalciferol in combating tibialdyschondroplasia in broiler chickens. British Poultry Science, 37:413–421.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. 2005.Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 186p.

Salvador,; D.; Emygdio de Faria; Mazalli, M.; Tsuyoshilto, D.; De Faria Filho, D.; Araújo, L. 2009. Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos. R. Bras. Zootec., v.38, n.5, p.887-892.

SAS Institute Inc.SAS/STAT 9.0. User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC. 2004.

Sasayama, Y., 1999. Hormonal control of Ca homeostasis in lower vertebrates: considering the evolution. Zool. Sci. 16, 857–869.

Scott, M.L; Nesheim, M.C; Young, R.J., 1973. Alimentación de las aves. Ed. GEA. Barcelona 1973. P:143-151

Singh, R., Joyner, C.J., Peddie, M.J., Taylor, T.G., 1986. Changes in the concentrations of parathyroid hormone and ionic calcium in the plasma of laying hens during the egg cycle in relation to dietary deficiencies of calcium and vitamin D. Gen. Comp. Endocrinol. 61, 20–28.

Snow, J. L., Baker, D. H. and Parsons C. M.. 2004 Phytase, Citric Acid, and 1α-Hydroxycholecalciferol Improve Phytate Phosphorus Utilization in Chicks Fed a Corn-soybean Meal Diet. Poultry Science 83:1187–1192

SOARES JR., J.H.; KERR, J.M.; GRAY, R.W. 1995. 25-hydroxycholecalciferol in poultry nutrition. Poultry Science, v.74, p.1919-1934.

Soto-Salanova. M.F. and Hernandez. J.M. 2004. Practical study on the effect of feeding a Optimum Vitamin Nutrition and 25-Hy-Droxycholecalciferol on production and egg quality of layers. XXII World´s Poultry Congress, Istanbul, Turkey.

Steel, R.G.D. and TORRIE, J.H. 1980. Principles and procedures of Statistics: A Biometral Approach. 2nd ed., McGraw-Hill, New York, NY

Sugiyama, T., Kusuhara, S., 2001. Avian calcium metabolism and bone function. AsianAust. J. Anim. Sci. 14, 82–90.
Tanaka, Y., H. F. DeLuca, J. Omdahl and M. F. Holick. 1971. Mechanism of action of 1,25-dihydroxycholecalciferol on intestinal calcium transport. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 68:1286-1288

Tanaka, Y., H. Frank and H. F. DeLuca. 1972. Role of 1,25-dihydroxy cholecalciferol in calcification of bone and maintenance of serum calcium concentration in the rat. J. Nutr. 102:1569-1577.

Tucker, G. III; Gagnon, RE; Hussier, MR. 1973. Vitamin D3 25-hydroxylase. Tissue occurrence and apparent lack of regulation. Archive of Biochemistry and Biophysics 155:47-57.

Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. Selenium. Page 421 in The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd ed. E. J. Underwood and N. F. Suttle, eds. CABI Publishing, New York, NY.

UNE-EN ISO 9963-1.1996. Calidad del agua. Determinación de la alcalinidad. Parte 1: Determinación de la alcalinidad total y compuesta. (ISO 9963-1:1994).

Van de Velde, J.P., Loveridge, N., Vermeiden, J.P.W., 1984. Parathyroid hormone responses to calcium stress during eggshell calcification. Endocrinology 115, 1901– 1904

Walzem, R.L., 1996. Lipoproteins and the laying hen: form follows function. Poultry and Avian Biol. Rev. 7, 31–64.
Walzem, R.L., Hansen, R.J., Williams, D.L., Hamilton, R.L., 1999. Estrogen induction of VLDLy assembly in egg-laying hens. J. Nutr. 129, 467S–472S.

Wasserman, R.H., and A.N. Taylor. 1973. Intestinal absorption of phosphate in the chick: effect of vitamin D3 and other parameters. J. Nutr. 103:586-599.

Wodzinski, R.J. y A.H.J. Ullah. 1996. Phytase. Advan. Appl. Micro. 42:263-302.

Yasuoka, T., Kawashima, M., Takahashi, T., Iwata, A., Oka, N., Tanaka, K., 1996. hanges in parathyroid hormone receptor binding affinity during egg laying: implications 1920.

Yoshimura, Y.,Ohira, H., Tamura, T., 1997. Immunocytochemical localization of vitamin D receptors in the shell gland of immature, laying, and molting hens. Gen. Comp. Endocrinol. 108, 282–289.