

Universidad Nacional de La Plata
Especialización en Nutrición Animal



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

**IMPORTANCIA DEL CALCIO Y FÓSFORO EN LA
FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN GALLINAS
PONEDORAS**

Vet. De Cristofaro, Agustín Marcelo

Febrero de 2017

Buenos Aires

**IMPORTANCIA DEL CALCIO Y FÓSFORO EN LA
FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN GALLINAS
PONEDORAS**

Tesina de la Especialización en Nutrición Animal presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Especialista en Nutrición Animal del alumno: De Cristofaro, Agustín Marcelo.

Profesor Tutor: MV. Sebastián J. Picco, DMV
Investigador Adjunto-CONICET
FCV-UNLP

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. FORMACIÓN DEL HUEVO.....	7
2.1 OVARIO.....	8
2.2 INTERRELACIONES HORMONALES DURANTE LA OVIPOSICIÓN.....	11
2.3 OVIDUCTO.....	11
2.4 INFUNDIBULO.....	12
2.5 MAGNUM.....	12
2.6 ISTMO.....	13
2.7 ÚTERO.....	14
2.8 VAGINA.....	17
3. MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DURANTE LA POSTURA.....	18
3.1 HUESO MEDULAR.....	18
3.2 MEDICIÓN DE LA CALIDAD ÓSEA.....	21
4. METABOLISMO DEL CALCIO, FÓSFORO Y VITAMINA D.....	21
4.1 CALCIO.....	22
4.2 FÓSFORO.....	22
4.3 VITAMINA D.....	23
4.4 REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL CALCIO Y FÓSFORO.....	23
4.5 METABOLISMO DEL CALCIO Y FOSFORO EN LA FORMACIÓN DE LA CASCARA DE HUEVO.....	27
4.6 SUMINSTRO DE CALCIO Y FÓSFORO.....	30
4.7 ABSORCIÓN DEL CALCIO Y FÓSFORO EN EL INTESTINO.....	31
4.8 MODELO DEL METABOLISMO DEL CALCIO Y FÓSFORO PARA LA FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DEL HUEVO.....	32
4.9 HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y FÓSFORO.....	38
4.10 COMPENSACIÓN RESPIRATORIA Y RENAL.....	39
4.11 ESTRÉS TÉRMICO.....	40

4.12 EQUILIBRIO ÁCIDO BASE EN LA FORMACIÓN DEL HUEVO.....	40
4.13 INFLUENCIA DE LOS ELECTROLITOS DE LA DIETA Y LA CALIDAD DE LA CÁSCARA.....	42
4.14 BICARBONATO.....	44
4.15 FÓSFORO INORGÁNICO.....	44
5. REQUERIMIENTOS DE CALCIO, FÓSFORO Y VITAMINA D EN LA GALLINA PONEDORA.....	45
5.1 REQUERIMIENTOS DE CALCIO.....	46
5.2 APETITO ESPECÍFICO POR CALCIO.....	49
5.3 IMPORTANCIA DEL CALCIO EN LA TRANSICIÓN DE POLLA A GALLINA ADULTA.....	51
5.4 REQUERIMIENTOS DE FÓSFORO.....	53
5.5 REQUERIMIENTO DE VITAMINA D.....	56
6. MATERIAS PRIMAS.....	57
6.1 FUENTES DE CALCIO.....	57
6.2 VALORES NUTRICIONALES DE LAS DIFERENTES FUENTES DE CALCIO.....	59
6.3 TAMAÑO DE PARTÍCULA DE CALCIO Y SOLUBILIDAD.....	59
6.4 FUENTES DE FÓSFORO.....	61
6.5 VALORES NUTRICIONALES DE LAS DIFERENTES FUENTES DE FÓSFORO.....	65
6.6 HARINA DE CARNE.....	67
6.7 FITASAS.....	72
7. MICROELEMENTOS Y CALIDAD DE LA CÁSCARA.....	77
7.1 PRE Y PROBIÓTICOS.....	79
7.2 ÁCIDOS ORGÁNICOS.....	81
7.3 ACEITES ESCENCIALES Y EXTRACTOS DE VEGETALES.....	82
7.4 ÁCIDO ASCÓRBICO O VITAMINA C.....	82
8. TRANSTORNOS NUTRICIONALES Y PATOLOGÍAS QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LA CÁSCARA.....	85

8.1 EXCESO DE CALCIO EN LA DIETA.....	85
8.2 DEFICIENCIA DE CALCIO Y FÓSFORO EN LA DIETA.....	86
8.3 OSTEOPOROSIS O FATIGA DE JAULA.....	87
8.4 DEFICIENCIA DE VITAMINA D.....	89
8.5 HIPERVITAMINOSIS D.....	91
8.6 BRONQUITIS INFECCIOSA.....	91
8.7 SÍNDROME DE CAÍDA DE POSTURA.....	93
8.8 ENFERMEDAD DE NEWCASTLE.....	95
9 CONCLUSIÓN.....	96
10 BIBLIOGRAFÍA.....	100

IMPORTANCIA DEL CALCIO Y FÓSFORO EN LA FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN GALLINAS PONEDORAS

1. INTRODUCCIÓN

Ningún otro mineral más que el calcio y el fósforo están involucrados en mantener la calidad máxima de la cáscara del huevo. Sin embargo, la determinación de la cantidad óptima de calcio y fósforo para la gallina ponedora ha sido un desafío continuo. La determinación del requerimiento de estos dos nutrientes ha cambiado constantemente en los últimos años, aumentando más de un 25% para el calcio, y disminuyendo para el fósforo.

Los productores hacen considerables esfuerzos para reducir al mínimo los problemas de calidad de la cáscara del huevo, muchas veces sin éxito. El problema se vuelve aún más confuso y complejo cuando un productor busca el consejo de otros productores, proveedores de alimentos o recurre a publicaciones de investigadores. Las recomendaciones o sugerencias que recibe en muchos casos no sólo son diferentes, sino que a menudo son exactamente lo contrario. Muchas veces la pregunta consiste si el aporte de carbonato de Ca debe ser bajo la forma de partícula fina o formas más gruesas, y si es así si, se debe utilizar piedra caliza o conchilla para cubrir el requerimiento de Ca. El dilema surge principalmente debido a que es bien conocido que el Ca es el principal nutriente implicado en la calcificación de la cáscara, también se sabe que hay varias fuentes de Ca disponible y que estas fuentes pueden variar ampliamente en precio.

La industria del huevo se encuentra en continuo cambio y crecimiento debido a una demanda creciente del mercado, cambios tecnológicos y la presión de los consumidores y de los organismos gubernamentales reguladores.

Desde el año 2000 en hasta el 2013 la producción mundial de huevos aumentó un 36,5%, eso representa un crecimiento de casi un 3% anual. La producción actual mundial es de 70 millones de toneladas. Alrededor del 70% de la producción mundial está concentrada en 10

países: China (39%), Estados Unidos (8%), India (5%), México, Rusia, Brasil, Japón (3% cada uno), Indonesia, Ucrania (2% cada uno) y Turquía (1%). De la totalidad del huevo exportable, el 83% se exporta como huevo en cáscara, el 14% como huevo líquido y el 3% como huevo deshidratado (FAO Statistical year Book 2013).

El fuerte impacto que sufrió Europa con la nueva legislación sobre bienestar animal y los brotes de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad que afectaron a los principales productores mundiales, representan una oportunidad de mercado en países exportadores que producen con menores costos de producción (Complejo Avícola, Plan Estratégico Agroalimentario y Agroindustrial, PEA 2020, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina).

Para el 2013 Argentina ocupaba el puesto número 11, con un 1% de participación a nivel mundial (687 toneladas). A nivel local equivale a 42,5 millones de aves en producción y 7,3 millones en cría, 12.150 millones de huevos, 1,1 millones de toneladas de maíz y 400 mil toneladas de soja, 5 millones de metros cuadrados de galpones (900 galpones), empleando a 18.000 personas en forma directa y 7.000 en forma indirecta. El 41,2% de la producción es en la provincia de Buenos Aires, el 25,2 % en Entre Ríos, 8,1% Córdoba, 7,8% Mendoza, 5,9% Santa Fe, NOA 5,6%, San Juan 2%, Neuquén y Río Negro 1,7%, Patagonia 0,8%, resto del país 1,6% (Cámara Argentina de Productores Avícola, estadísticas anuales 2015).

2. FORMACIÓN DEL HUEVO

El huevo es uno de los primeros alimentos utilizados por el hombre y su consumo está ampliamente distribuido en la población mundial. Es parte del proceso de reproducción de las aves, por ello contiene todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de un futuro embrión. La formación de un huevo supone un gran esfuerzo fisiológico por parte de la gallina que es capaz de depositar alrededor de 7,7 gramos de proteína, 7 gramos de lípidos, 2 gramos de Ca y 40 gramos de agua, entre otros, casi cada día.

2.1. OVARIO

La gallina llega a la madurez sexual hacia las 20 semanas de edad, dependiendo de la genética, la nutrición, el ambiente, fotoperíodo, entre otros. El aparato reproductor femenino del ave está compuesto de un ovario y oviducto, desarrollándose únicamente el izquierdo.

El ovario pesa 35 gramos aproximadamente y se sitúa en la parte inferior de la cavidad abdominal, cerca del riñón. Su aspecto de “racimo uva” (Fig.1) se lo confieren los folículos que se encuentran en distintas fases de crecimiento. Por lo general se observan entre 3 o 4 folículos grandes (Fig. 2) y una serie de 8 a 12 en tamaño decreciente (Fig.3), mientras que el resto (más de 4.000) son únicamente visualizados al microscopio.

El huevo se va formando gradualmente a lo largo de 24 a 26 horas, durante las cuales todos los componentes necesarios se van sintetizando o transportando hasta el lugar de formación y deben disponerse en la secuencia, cantidad y orientación adecuada para que el huevo producido sea correcto. Cualquier alteración durante el proceso dará lugar a anomalías y, consecuentemente, pérdidas en la calidad del huevo.

Los gametos se forman aproximadamente 150 días antes de la ovulación, y a partir del óvulo se desarrolla la yema en el ovario, rodeado por la pared folicular o membrana vitelina, constituida por cuatro capas, dos internas de origen ovárico y dos externas sintetizadas en el oviducto. En la superficie de la yema se encuentra el disco germinativo, lugar de división de las células embrionarias cuando el huevo está fecundado.

La yema se puede describir como una emulsión de agua (49 %), lipoproteínas, proteínas, minerales y pigmentos. El origen de los nutrientes es doble: síntesis endógena y aporte dietético. Todos los componentes que forman la yema son transportados hasta el ovario por vía sanguínea a partir del hígado, cuya actividad de lipogénesis se multiplica hasta 10 veces al llegar a la madurez sexual.

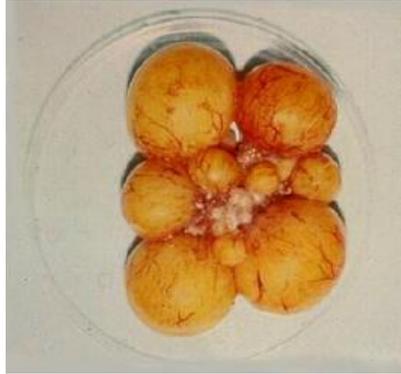


Fig. 1: Estructura del ovario en forma de “racimo de uvas”. Extraído de Diseases of Poultry A Colour Atlas. Author: Ivan Dinev.

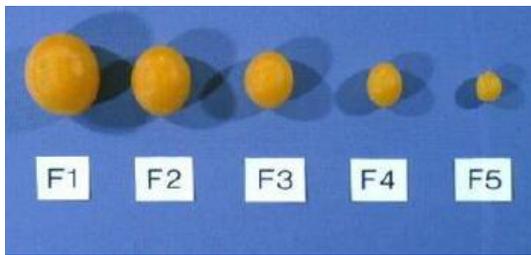


Fig. 2: jerarquía folicular. Extraído de Diseases of Poultry A Colour Atlas. Author: Ivan Dinev.



Fig. 3 : Folículos pequeños amarillos (SYF) de 5 a 10 mm. Folículos grandes blancos (LWF) de 1 a 10 mm. Folículos pequeños blancos (SWF) menor a 1 mm. Extraído de Diseases of Poultry A Colour Atlas. Author: Ivan Dinev.

Unos 10 días antes de la ovulación, se produce la fase de crecimiento rápido de la yema dentro del folículo ovárico (de 0,06 a 18 gramos de peso), denominada vitelogénesis, donde se produce el reclutamiento de folículos mayores a los 10 mm. Se pueden observar capas concéntricas de vitelo, cuya coloración varía en función del tipo y concentración de carotenoides del alimento consumido por la gallina (Fig.4).

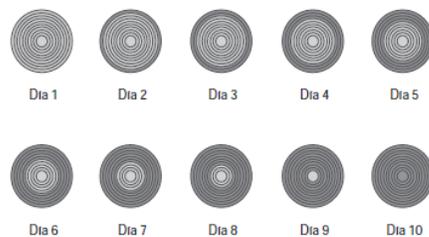


Fig. 4: Incorporación de carotenoides en la dieta y variación en la coloración de coloración en la yema. Extraído de: Atlas of chick development (Third Edition). Ruth Bellairs and Mark Osmond Department of Cell and Developmental Biology, University College London, UK.

La ovulación se produce cuando el folículo alcanza la madurez y se libera la yema que será captada por el oviducto, esta ruptura se produce a nivel del estigma, que es la parte de la pared folicular exenta de capilares sanguíneos (Fig.5).

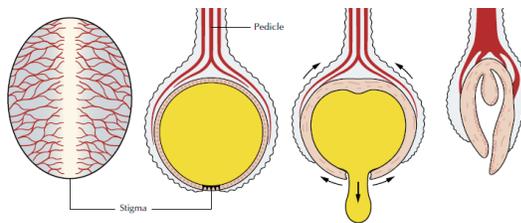


Fig 5: Ruptura del estigma y ovulación. Extraído de: Atlas of chick development (Third Edition). Ruth Bellairs and Mark Osmond Department of Cell and Developmental Biology, University College London, UK.

2.2. INTERRELACIONES HORMONALES DURANTE LA OVIPOSICIÓN

Los sistemas involucrados en la regulación hormonal de la postura son el cerebro (hipotálamo y pituitaria anterior o adenohipófisis), ovario, oviducto, hígado y el sistema óseo.

La gallina no ovula de forma continuada cada día, la liberación de la yema está controlada por hormonas producidas en la adenohipófisis o pituitaria anterior y en los propios folículos, ambos bajo control del programa de luz.

Para que la ovulación se produzca han de confluir dos fenómenos: que el folículo más grande (F1) madure y sea capaz de producir progesterona y que se produzca la liberación de hormona luteinizante (LH) desde la pituitaria anterior, fenómeno que solo ocurre en un margen de 6 a 8 horas, durante el periodo de oscuridad. La liberación de la yema desde el ovario se produce de 8 a 10 horas después del pico de LH nocturno y la puesta del huevo totalmente formado se realiza unas 24 horas después de la ovulación. La siguiente ovulación se produce unos 30 minutos más tarde de la postura del huevo totalmente formado, es decir que las ovoposiciones se realizan de día (periodo de luz) y se van retrasando en el tiempo. Por lo tanto, la gallina pone huevos durante varios días consecutivo, en series que van de 20 a 40 huevos y después estará 1 o 2 días sin poner, hasta comenzar una nueva secuencia de postura. El número de huevos de la serie marca la tasa de producción que va disminuyendo con la edad.

La yema entra en el oviducto 24 a 26 horas antes de la salida del huevo a nivel de la cloaca (ovoposición).

2.3. OVIDUCTO

El oviducto se presenta como un tubo de 60 a 70 cm de largo y 40 gramos de peso (Fig.6), que va desde la región del ovario hasta la cloaca. En relación a las distintas funciones que realizan, se describen cinco secciones: infundíbulo, magno, istmo, útero y cloaca.

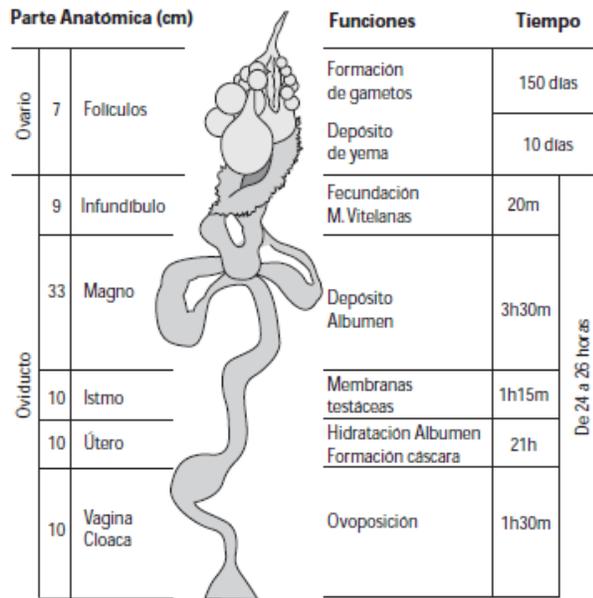


Fig. 6: Esquema de la formación del huevo. Extraído de: Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1º Edición: Julio 2002.

2.4. INFUNDIBULO

Es la entrada del oviducto, el lugar donde la yema o vitelo es capturada tras la ovulación. Tiene forma de embudo y el tiempo de permanencia es aproximadamente 15 a 30 minutos. Aquí se forman las dos capas más externas de la membrana vitelina, que representan 2/3 partes del total y juegan un papel muy importante en la protección de la yema, evitando la entrada de agua a partir de la clara. Además, el infundíbulo es el lugar donde se puede producir la posible fertilización del huevo.

2.5. MAGNUM

Es el lugar donde comienza la formación de la albúmina. A diferencia de los componentes de la yema que provienen del hígado, las proteínas que constituyen el albumen son sintetizadas en el magnum y están bajo la regulación de las hormonas esteroideas ováricas. Estas tienen propiedades nutricionales y funcionales específicas, cabe destacar la

responsabilidad de la ovoalbúmina y ovomucina en la consistencia del albúmen y las propiedades antibacterianas de la lisozima. El magnum es la sección más larga del oviducto y presenta distintos tipos de células especializadas en la producción de las proteínas específicas que forman el albúmen, entre ellas se destacan:

- Glándulas tubulares: secretan ovoalbúmina y lisozima, entre otras, que equivalen al 80% de los componentes de la clara.
- Células caliciformes: sintetizan avidina y ovomucina.

La síntesis proteica se efectúa de forma continuada pero aumenta cuando la yema entra en el magnum, la distensión tisular que produce la yema a su paso por el oviducto, provoca la liberación de las proteínas almacenadas en las células que se irán depositando durante las 3 horas y media que demora este proceso. Cuando el huevo sale del magnum, el albúmen presenta un aspecto gelatinoso denso ya que solo contiene un 50 % del agua, es decir alrededor de 15 gramos.

2.6. ISTMO

Es el lugar donde el albúmen empieza a rodearse de las fibras proteicas que constituirán las dos membranas testáceas (3% del peso del huevo), formadas por un entramado de fibras proteicas fuertemente adheridas, excepto en la zona de la cámara de aire. La membrana testácea externa corresponde a la parte orgánica de la cáscara y representa un 2 % del peso de la cáscara. Está constituida por un 70% de proteínas y glucoproteínas y un 11 % de polisacáridos. Esta matriz se integra en el crecimiento de las columnas de calcita, dando elasticidad y consistencia a la cáscara, este proceso tiene una duración de 1 hora y 15 minutos aproximadamente.

La cámara de aire se forma por contracción de los contenidos del huevo al tomar contacto con la temperatura ambiente (enfriamiento) y su tamaño aumenta a medida que el huevo es más viejo. Ambas membranas ejercen un papel protector de la contaminación microbiana, la membrana externa además tiene la función de soporte de la cáscara.

2.7. ÚTERO

El huevo en formación entra en el útero 5 horas después de la ovulación y permanece entre 18 a 22 horas, y ocurren varios procesos. Por un lado el proceso de hidratación y estructuración del albúmen termina en el útero, fase conocida como “plumping”. La transferencia de agua está acompañada de minerales, sobre todo sodio, potasio y bicarbonato. Finalmente se constituyen las cuatro capas de albúmen (Fig.7):

1. Albúmen denso interno (1 gramo, 3%) dispuesto en forma de filamentos que van desde la yema hasta los dos extremos del huevo constituyendo las chalazas que son las responsables de asegurar la suspensión de la yema en el centro del huevo.
2. Albúmen fluido o líquido interno (6 gramos, 17%)
3. Albúmen denso externo, (20 gramos, 57%) masa gelatinosa que rodea al anterior y se extiende a ambos extremos del huevo.
4. Albúmen fluido externo, representa un 23% del total de la clara (8 gramos), está en contacto con las membranas testáceas y se visualiza al abrir el huevo.

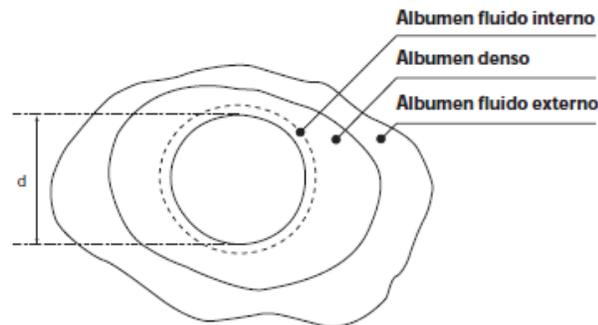


Fig.7: Distintos tipos de albúmina del huevo. Extraído de: Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1º Edición: Julio 2002.

Se produce una rotación del huevo en el útero dando lugar a la torsión de las fibras proteicas del albúmen denso, formándose las chalazas. Por lo tanto el útero

complementariamente al magnum, es responsable de las propiedades fisicoquímicas de la clara y de la situación de la yema, es decir su función es determinante en la calidad interna del huevo.

Otra función importante del útero es la formación de la cáscara. En esta parte del oviducto se reconocen dos secciones diferenciadas y se presentan varios tipos de células secretoras. La parte craneal del útero es de forma tubular (2 cm y 5 horas de permanencia) y es responsable, además de la hidratación de la clara, de la organización de las fibras de la membrana testácea externa dentro de los núcleos de la capa mamilar, repercutiendo sobre la fijación posterior de los cristales de carbonato cálcico y, por lo tanto, en la solidez de la futura cáscara.

La parte mayor del útero, es una bolsa glandular donde se realiza la calcificación propiamente dicha, adquiriendo el tejido una coloración rojiza durante el proceso de mineralización. La membrana testácea externa tiene núcleos o conos anclados, formando la capa mamilar sobre la cual se realiza la calcificación. El huevo se encuentra en una solución sobresaturada de carbonato cálcico que se va depositando, en forma de calcita, sobre las fibras que constituyen la membrana testácea externa, en núcleos o conos concretos. La capa cristalina basal y los cristales que irradian constituyen los cuerpos mamilares, que crecen y se fusionan formando la capa mamilar. Columnas verticales de carbonato de Ca se van formando, entrelazando y cambiando de dirección, constituyendo la capa en empalizada (Fig.8).

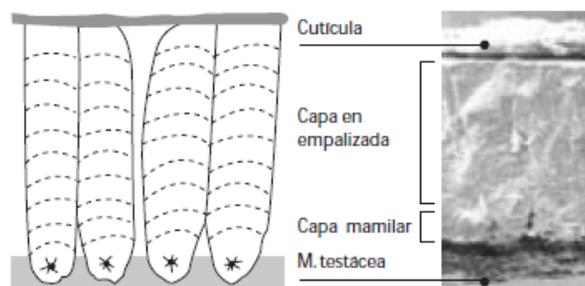


Fig. 8: Estructura de la cáscara del huevo. Extraído de: Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1º Edición: Julio 2002.

Durante este proceso ya se van definiendo los poros que atravesarán la cáscara. A partir de aquí, continúa una fase de calcificación rápida dando lugar a la capa en empalizada y, posteriormente, se produce un cambio de orientación de los cristales formándose la capa de cristales verticales. El alimento es la principal fuente de Ca necesario para la formación de la cáscara (2 gramos).

Finalizado el proceso de calcificación se obtiene la cáscara del huevo, constituida por una matriz inorgánica, constituida en un 90% por carbonato cálcico depositado en su forma más estable, la calcita, y una matriz orgánica formada por la membrana testácea externa. La cáscara tiene un grosor aproximado de 0,35 mm y presenta entre 7.000 a 15.000 poros que permiten el intercambio gaseoso del embrión en desarrollo con el exterior.

Los pigmentos, responsables de la coloración de la cáscara en los huevos de color, son porfirinas derivadas del metabolismo de la hemoglobina. Se depositan en las últimas 2 horas de la formación del huevo y dependen de la línea genética.

Todo el conjunto de la cáscara está rodeado por una recubierta orgánica denominada cutícula, constituida en un 90% por proteínas y en menor cantidad lípidos e hidratos de carbono (Tabla 1). La cutícula reduce las pérdidas de humedad y la contaminación bacteriana. Tras la puesta se presenta en forma húmeda y le da un aspecto brillante al huevo, luego se seca y se va deteriorando y, entre los dos a cuatro días desde la puesta, desaparece, si el huevo se lava o se frota, puede desaparecer antes.

Tabla 1:

	Cáscara (membranas)	Albumen	Yema	Huevo entero (sin cáscara)
Agua	1.5	88.5	49.0	73.6
Proteína	4.2	10.5	16.7	12.8
Lípidos	-	-	31.6	11.8
Otros compuestos orgánicos	-	1.1	1.1	1.0
Compuestos inorgánicos	94.3	1.6	1.6	0.8

Composición del huevo. Extraído de: Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1º Edición: Julio 2002.

2.8. VAGINA

Una vez formado el huevo se producirá la expulsión a través de la vagina, tubo en forma sigmoidea que va desde el útero hasta la cloaca. No es necesario el contacto directo del huevo con la vagina, ya que se produce un prolapso de la parte posterior del útero. El huevo es expulsado con fuerza gracias a las contracciones de la musculatura lisa que rodea la mucosa. En algunas gallinas, el huevo gira 180 grados una hora antes de la ovoposición saliendo primero la parte roma.

Una vez que el huevo se encuentra fuera de la gallina se forma la cámara de aire entre la membrana testácea interna y externa en el polo romo del huevo, por contracción de los contenidos del huevo al tomar contacto con la temperatura ambiente (enfriamiento) y su tamaño aumenta a medida que el huevo es más viejo.

Finalizado el proceso se obtiene un huevo, compuesto básicamente por una yema central (31%) rodeada por el albumen o clara (58%) y todo ello envuelto por una cáscara externa (11%), aunque existen variaciones debidas a distintos factores como edad, línea genética, nutrición, entre otros (Fig.9).

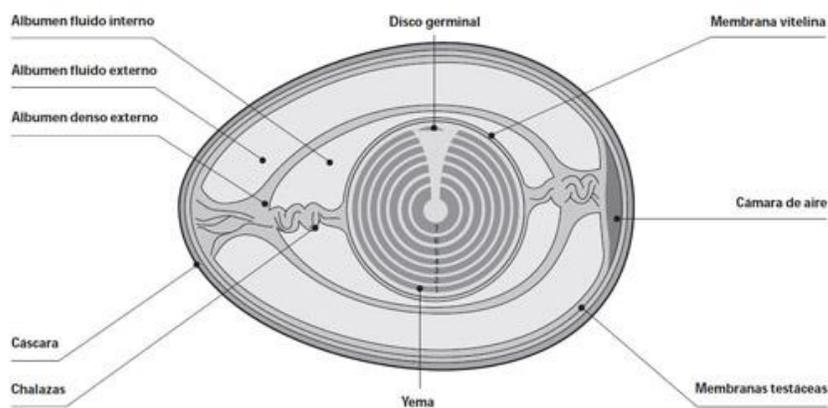


Fig. 9: Estructura interna del huevo. Extraído de: Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1º Edición: Julio 2002.

3. MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DURANTE LA POSTURA

Diversos mecanismos fisiológicos permiten que la concentración de Ca en sangre se mantenga relativamente constante y elevada, con la finalidad de conseguir un depósito de cáscara regular.

Durante el período de puesta, se incrementan las tasas de absorción, depósito y almacenamiento de Ca. Se produce una mayor transferencia de Ca desde la sangre a la superficie del huevo en formación donde precipita el ion carbonato.

Aparece un mayor apetito específico por el Ca, es decir, un mayor consumo y en un horario determinado. De modo que la utilización de una fuente extra de Ca, además del Ca suministrado en el alimento balanceado, y el momento de su administración, son fundamentales para mantener una buena calidad de cáscara. Debido a que la cáscara se deposita de forma continua durante 20 horas y fundamentalmente de noche, se produce un pico de consumo de Ca 2 horas antes del período de oscuridad, por tal motivo se utilizan fuentes de Ca de absorción lenta, sobre todo durante la tarde-noche.

3.1. HUESO MEDULAR

El esqueleto del ave es un sistema único que está especialmente adaptado para volar, caminar, y poner huevos. Hay tres diferentes tipos de huesos: el hueso cortical, el trabecular y el medular (Fig. 10).

1. El hueso cortical es la superficie externa dura de los huesos redondos, tales como el fémur, o el húmero y de los huesos planos, tales como el cráneo o la pelvis.
2. El hueso trabecular o esponjoso es menos denso que el hueso cortical y ayuda a mantener la estructura interior del hueso cortical.
3. El hueso medular es un tejido especializado que sirve como una reserva de Ca para la demanda de la formación de la cáscara del huevo. El hueso medular almacena y

reabsorbe el Ca fácilmente por lo que es la primera fuente para movilizar el Ca cuando se requiere. Corresponde al 12% del esqueleto y se forma 10-14 días antes de iniciarse la postura de huevos. Ahora bien, se necesita un aporte dietético continuo de Ca para mantener este depósito. La gallina prioriza su función reproductora y podría llegar a descalcificarse, aun cuando no tiene suficiente reserva de Ca. La formación de 6 huevos supondría la pérdida del 40% del total del Ca del esqueleto.

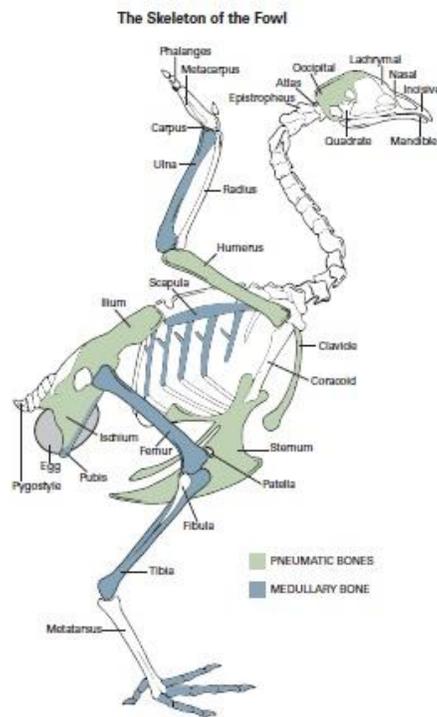


Fig. 10: Ubicación del hueso medular. Extraído de Hy Line, Technical Update, Understanding the role of the skeleton in egg production.

El crecimiento del hueso y la resorción están controladas y reguladas por algunas células y hormonas que trabajan juntas para mantener la estructura ósea y los niveles de Ca en la sangre necesarios para una producción óptima de huevos.

Las células involucradas en el crecimiento y modelado del hueso son los condrocitos, los osteoblastos y los osteoclastos.

1. Los condrocitos secretan colágeno tipo II y otros componentes importantes para la formación del hueso.
2. Los osteoblastos producen el colágeno tipo I y se encargan de la osteogénesis y la mineralización del hueso.
3. Los osteoclastos reabsorben hueso para remodelar o para liberar Ca en la sangre.

Dependiendo de la necesidad fisiológica, diversas hormonas controlan el crecimiento o resorción del hueso medular.

1. La tiroxina estimula la actividad de los osteoblastos.
2. La melatonina contribuye en la actividad de los osteoblastos. Los niveles de melatonina son más altos cuando las aves duermen durante los períodos de oscuridad y se inician varios eventos afectando las hormonas necesarias para la producción de huevo.
3. El estrógeno aumenta en la madurez sexual y cambia la actividad de los osteoblastos de crear hueso cortical y trabecular a crear hueso medular. Después del primer huevo, la única manera que el ave puede remodelar la estructura del hueso es durante los períodos

de estrógeno bajo, tales como durante la muda o en los períodos de descanso en la postura durante el período normal de producción.

4. La calcitonina se libera cuando hay niveles altos de Ca sérico, disminuyendo la actividad de los osteoclastos y aumentando la actividad de los osteoblastos que construyen hueso y reducen los niveles de Ca sérico.
5. La hormona paratiroide (PTH) se libera durante los períodos bajos de Ca sérico y se une a los osteoblastos. Este enlace disminuye la actividad de los osteoblastos y aumenta la actividad de los osteoclastos aumentando los niveles de Ca sérico. Las propiedades adicionales de la hormona paratiroide (PTH) incluyen el aumento de la absorción de Ca en el intestino delgado y la disminución de la excreción de Ca en la orina. La calcitonina y la hormona paratiroide trabajan juntas en la retroalimentación para asegurar que se mantengan los niveles apropiados de Ca sérico.

El Ca para la formación de la cáscara tiene dos orígenes, directamente del duodeno y yeyuno e indirectamente de la resorción ósea. La proporción de Ca derivada de estas dos

fuentes varía con el día. Durante el día, la gallina utiliza las fuentes de Ca provenientes de la dieta. Durante la noche, cuando las fuentes de Ca provenientes de la dieta no están disponibles, el ave moviliza Ca de los huesos. Los estrógenos y andrógenos estimulan a los osteoclastos (por resorción ósea) a volcar el Ca del hueso medular en el plasma, aumentando este de 100 para 250 mg/ml. Entre tanto, cuanto mayor es la contribución del hueso medular a la formación de la cáscara, peor es la calidad de la misma.

3.2. MEDICIÓN DE LA CALIDAD ÓSEA

Los métodos convencionales de evaluación de la integridad del hueso (por lo general tibias) han implicado la destrucción de muestras disecadas a las cuales se les medía: ceniza, niveles de Ca y P, dando una indicación del contenido mineral. La fuerza de ruptura es una medida relativa sujeta a numerosos errores potenciales en la metodología. Más recientemente, han sido aceptadas en la medicina humana, metodologías no destructivas como la ultrasonografía cuantitativa (QUS) y la microtomografía computarizada axial de rayos X (Micro CT). QUS se basa en la captación de ondas sonoras que van viajado a través de la hueso, donde la densidad influirá en el tiempo entre la emisión y la captura de la señal. Micro CT se basa en imágenes, tomadas en cada 0,5° alrededor de una muestra, y el software permite la reconstrucción de una imagen en 3 dimensiones, proporcionando también la cuantificación de la densidad en áreas seleccionadas de la imagen.

Este tipo de tecnología es útil para la evaluación del estado de los huesos en gallinas ponedoras comerciales, especialmente cuando la misma gallina se estudia en el tiempo. Por lo tanto, la medición de los cambios en la densidad y estructura ósea mineral junto con los registros de producción ayudará a identificar lotes susceptibles en un futuro próximo.

4. METABOLISMO DEL CALCIO, FÓSFORO Y VITAMINA D

El Ca se almacena casi enteramente en forma de cristales de hidroxiapatita de fosfato de Ca ($3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$), por lo que la movilización de Ca (Ca) resulta en la liberación simultánea de P (P) a la par. Esto puede dar lugar a niveles plasmáticos elevados de P, que

serán eliminados por la la orina. Por lo tanto, la excreción de P con el guano en el medio ambiente, no sólo depende de los niveles de ingesta de P y los niveles de P en el huevo, sino también en los niveles de Ca en la dieta. El exceso de P en el guano de aves puede contribuir a la acumulación de P en el suelo y la eutrofización (acumulación de nutrientes inorgánicos en un ecosistema acuático).

Si el aporte de Ca o P en la dieta es limitado, la utilización y el almacenamiento adecuado de estos dos minerales es imposible. En la situación inversa, cuando hay un exceso de uno o de ambos minerales, la disponibilidad del otro puede ser reducida debido a la formación de fosfato de Ca insoluble en el intestino. Las deficiencias de Ca, P o ambos pueden resultar en una reducción de la calidad huesos y de la cáscara del huevo.

Niveles excesivos de Ca y P pueden interferir con la absorción de otros nutrientes, por ejemplo, zinc y magnesio, lo que provoca una deficiencia de estos elementos.

4.1. CALCIO

El Ca es ingerido con el alimento y se absorbe principalmente en el duodeno y yeyuno superior al sistema vascular. El pool extracelular de Ca contiene continuamente 90-120 mg Ca/l, donde el Ca necesario para los procesos metabólicos, desarrollo óseo, crecimiento y performance productiva es constantemente liberado. Durante la postura, el Ca plasmático aumenta a 200-300 mg/l (aproximadamente un 250%), para facilitar un alto flujo de Ca a las glándulas de la cáscara ubicadas en el útero.

El Ca de la dieta se puede obtener a partir de fuentes inorgánicas u orgánicas y puede estar presente en forma de fino (piedra caliza) o grueso (conchilla). Hay indicios de que la alimentación de las fuentes gruesas de Ca pueden tener un efecto positivo sobre el consumo de alimento, peso corporal, la mineralización ósea y calidad de la cáscara de huevo.

4.2. FÓSFORO

El P no solo es necesario para el desarrollo del esqueleto, sino que también desempeña un considerable papel en el metabolismo de la energía (ATP). La absorción de P se lleva a

cabo principalmente en el duodeno y el yeyuno. Los niveles de P en el pool extracelular de P generalmente se encuentra en el intervalo de 4 a 9 mg /dl.

El P de la dieta puede obtenerse a partir de fuentes animales, vegetales y de suplementos inorgánicos. El P presente orgánicamente en los vegetales se encuentra bajo la forma de sales de ácido fítico (P fítico) o de otras formas (P no-fítico). Los monogástricos tienen mayor dificultad para digerir el P fítico en comparación con el P no-fítico, especialmente cuando el contenido de Ca en la alimentación es alto.

La biodisponibilidad de diferentes fuentes de fosfato inorgánicos se ha investigado en numerosos estudios, llegando a la conclusión que los fosfatos mono y dicálcico tienen el mayor valor biológico y se utilizan con mayor frecuencia en formulación de las dietas.

4.3. VITAMINA D

La vitamina D₃ (colecalfiferol) es esencial para la absorción de Ca y P. Puede ser obtenida directamente de la dieta o puede ser sintetizada a partir de su precursor, el 7-dehidroxicolesterol, que se forma en el hígado. El 7-dehidroxicolesterol es transportado a la piel, donde se transforma en vitamina D₃ bajo la influencia de la luz ultravioleta y la temperatura de la piel. En el hígado, y en menor medida en el riñón y los intestinos, la vitamina D₃ es transformada a 25-hidroxivitamina D₃ (25-OH D₃). En el riñón, y en menor medida en otros tejidos, incluyendo el intestino, hueso y piel, se convierte en 1,25-(OH)₂ D₃, que es la forma activa de la vitamina. La conversión tiene lugar con la ayuda de la enzima 1- α -hidroxilasa y está regulada homeostáticamente por el Ca²⁺ plasmático, la secreción de la hormona paratiroidea (PTH) y posiblemente también por P plasmático, la calcitonina y la secreción de hormonas de las gónadas.

4.4. REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL CALCIO Y FÓSFORO

En orden de asegurarse una distribución adecuada del Ca y P disponible por encima de los niveles requeridos y manteniendo el pool extracelular de Ca y P en un nivel constante, se

presenta un mecanismo complejo. Este mecanismo ayuda al ave a mantener la homeostasis, incluso bajo condiciones de nutrientes subóptimas, en el caso de que persista la deficiencia, la homeostasis es perturbada y uno o más procesos serán reducidos.

La homeostasis del Ca y P se mantienen a través de un sistema de retroalimentación compleja. Cuando el Ca^{2+} en plasma disminuye, debido a que se pierde Ca por diferentes procesos biológicos, la glándula paratiroides es estimulada para secretar la hormona paratiroidea o parathormona (PTH). La PTH en mayor medida, pero además el $17\text{-}\beta$ -estradiol, la prolactina y la hormona de crecimiento (GH), estimulan la hidroxilación de 25-(OH)D_3 a $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ en el riñón. Esta hidroxilación también está estimulada en forma directa por una baja concentración plasmática de Ca^{2+} .

El $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ y la PTH alteran el metabolismo de Ca y P a través de tres vías:

1. Intestino: $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ estimula la eficiencia de la absorción de Ca y P en el intestino.
2. Hueso: $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, junto con PTH o GH, estimula la degradación de hueso medular, para que el Ca y P sean liberados en la sangre. Cuando los niveles de Ca^{2+} y P en plasma alcanzan los niveles requeridos, el $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ estimula la mineralización ósea en ausencia de PTH y GH.
3. Riñón: $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, junto con la PTH, tiene un efecto estimulante sobre la reabsorción tubular de Ca y un efecto supresor sobre la reabsorción tubular de P en el riñón. En consecuencia, se reduce la excreción de Ca y aumenta la excreción de P en la orina.

Además, la $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ también estimula la producción de enzimas, proteínas de unión y componentes de la membrana, que participan en el transporte de Ca y P (Frost et al., 1990).

En las aves, la estimulación directa de la PTH actúa con rapidez, mientras que la regulación a través de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ es lenta. Ha habido cierta controversia sobre el efecto de la $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sobre la glándula paratiroides, sin embargo, lo más probable es que la $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ suprime la secreción de PTH (Jones et al, 1998; DeLuca, 2004).

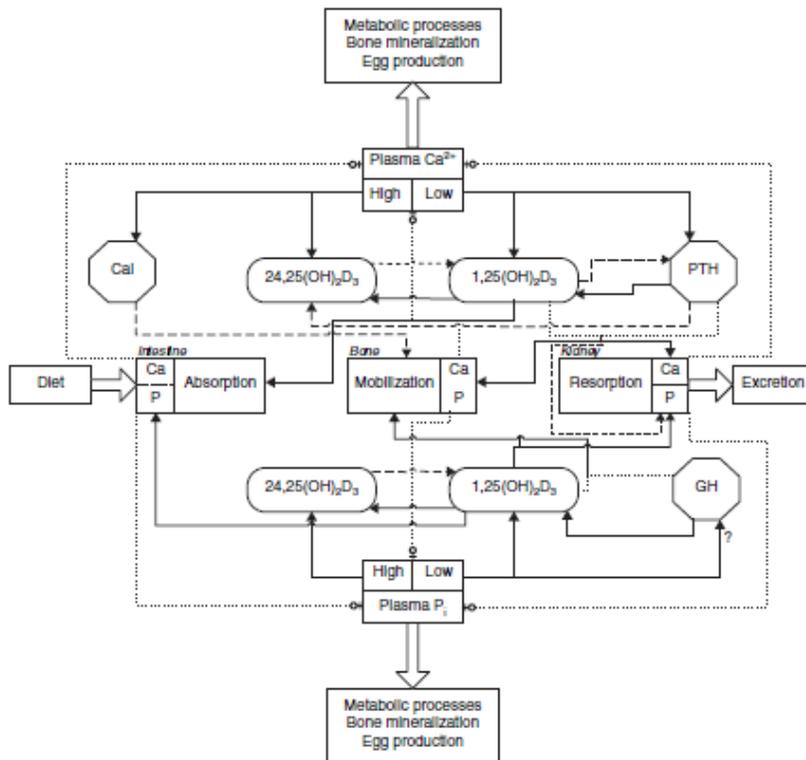
Cuando los niveles plasmáticos de Ca^{2+} se elevan, resultan en la liberación de calcitonina de la glándula tiroideas. La calcitonina bloquea la movilización de Ca y P del esqueleto, por lo tanto baja la concentración plasmática de Ca^{2+} . No está claro si la calcitonina juega un papel directo en la regulación de metabolismo de la vitamina D_3 (revisado por Jones et al, 1998; Johnston e Ivey, 2006).

También, cuando el P plasmático disminuye, los niveles de la $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ en el plasma y en los tejidos aumentan, de forma independiente de la PTH (Tanaka y DeLuca, 1973; revisado por Newman y Leeson, 1997; Bar, 2008). No está claro como tiene lugar la regulación del $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ por los niveles plasmáticos P. Si bien se sabe que el $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ estimula la degradación de hueso medular sólo en presencia de PTH o GH, lo más probable es que la hipofosfatemia induce la liberación de GH, a fin de aumentar los niveles de P plasmático.

Las altas concentraciones plasmáticas de Ca^{2+} y P parecen inducir la producción de $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ a partir de 25(OH)D_3 y del $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (24-hidroxilación). El papel del $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ no está completamente entendido, pero está claro que la formación de este metabolito, afecta los niveles $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ plasmáticos y por lo tanto podría estar implicado en la regulación de la vitamina D_3 (Jones et al., 1998).

Los factores que intervienen en el inicio de la movilización de Ca de la sangre hacia el útero para la formación de cáscara de huevo todavía no están claros. Se sugiere que las hormonas secretadas por el ovario en un ritmo circadiano, junto con el ciclo de huevo, están involucrados. Un factor endocrino indefinido podría ser responsable del comienzo de la deposición de Ca en la cáscara del huevo, mientras que la progesterona esté implicada en el fin de la deposición de Ca (Bar, 2009), (Esquema 1).

Esquema 1:



Homeostasis del Ca y el P en la gallina ponedora. Adaptado y modificado de Rao y Roland (1990) y Bar (2008). Las flechas abiertas (↑) indican procesos de demanda y suministro de Ca y P. Las líneas continuas (—) indican regulación positiva, mientras que las líneas discontinuas (- -) indican regulación negativa. Las líneas de puntos (...) indican co-regulación de diferentes hormonas. Cal, calcitonina; GH, hormona del crecimiento; PTH, hormona paratiroidea. Tener en cuenta que el 17-β-estradiol y prolactina también están involucrados en la regulación de 25-(OH) D₃ a 1,25-(OH)₂D₃. Extraído de: Phosphorus and Calcium utilization and requirements in farm animals. Dorinha M.S.S. Vitti and Ermias Kebreab.

4.5. METABOLISMO DEL CALCIO Y FÓSFORO EN LA FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DE HUEVO

Aproximadamente el 99% de todo el Ca del huevo se encuentra en la cáscara, mientras que el P está presente en mayor medida en la yema. La formación de la yema y de la albúmina se supone que son constantes durante el día, mientras que la formación de la cáscara de huevo comienza aproximadamente 4 horas después de la ovulación. Las necesidades de P para la producción de huevos puede ser considerada como constante durante el día, similar a los requerimientos de P para el crecimiento y mantenimiento. Los requerimientos de Ca, sin embargo, pueden variar considerablemente durante el día debido al proceso dinámico de formación de la cáscara durante el día.

La mayor parte de la formación de la cáscara se lleva a cabo durante la fase de oscuridad, sobre todo cuando se produce la ovulación al final del día. El aporte de Ca de la dieta es bajo durante estas horas de oscuridad, especialmente cuando no queda casi alimento en el intestino. En consecuencia, el Ca tiene que ser movilizado de las reservas del hueso medular con el fin de satisfacer los altos requerimientos. En consecuencia, una proporción considerable de Ca en la cáscara del huevo, deriva de reservas de hueso (entre un 20% hasta un 40%, según lo informado por Bar, 2009). La degradación de la hidroxiapatita (fosfato de Ca) del hueso medular conduce a elevados niveles plasmáticos de P debido a la liberación simultánea junto al Ca^{2+} . Estos niveles en exceso de P no pueden ser utilizados en ese momento y se excretan con la orina mientras que el Ca^{2+} se destina a la producción de cáscara, de modo que ambos nutrientes vuelven a bajar su concentración plasmática.

Al iniciarse el siguiente día y con el, un nuevo ciclo de luz, el consumo de alimento se inicia de nuevo y los niveles plasmáticos de Ca^{2+} y P aumentan. Al mismo tiempo, la formación de la cáscara de huevo llega a su fin y se necesita menos Ca. El Ca que ya no se necesita para la formación de cáscara, ahora se puede depositar en el hueso, con la condición de que haya suficiente P disponible para que puedan almacenarse juntos. El momento de proporcionar Ca y P, así como la relación en la que se deben proveer en el

alimento, determinan si estos nutrientes se pueden utilizar directamente o depositarlos en el hueso o excretarlos.

Por lo tanto, si se le da una elección de los alimentos, la gallina reduce su ingesta de Ca durante la mañana cuando los requerimientos de Ca son bajos, y muestra un aumento en la absorción de Ca al final de la fase de luz (Chah y Moran, 1985; revisado por Etches, 1987), los días cuando se lleva a cabo la formación de la cáscara (Mongin y Saveur, 1974; revisado por Sykes, 1984). Una alimentación que permita la libre elección de Ca a la gallina, puede darle la oportunidad de reducir o aumentar la ingesta de Ca de manera adecuada en los momentos esenciales. La ingesta de P voluntario, por el contrario, es mayor en la mañana que a la tarde (Keshavarz, 1998). Esto es probablemente debido a la mayor necesidad de almacenar P junto con Ca, en el hueso medular.

Además de los cambios circadianos en los requerimientos de Ca para la producción de huevos, los requerimientos de Ca también se ven afectadas por la etapa de la secuencia ovulatoria. La secuencia ovulatoria de una gallina por lo general se compone de tres a nueve ciclos ovulatorios y es seguido por un día de descanso en la que no se produce la oviposición. Cada ciclo tiene aproximadamente 24-28 horas de duración, comenzando con la ovulación y terminando con la oviposición. Cada oviposición es seguida por una ovulación, con la excepción de la última oviposición de la secuencia. La ovulación sucede 1 hora después de la oviposición dando origen a un nuevo ciclo de postura.

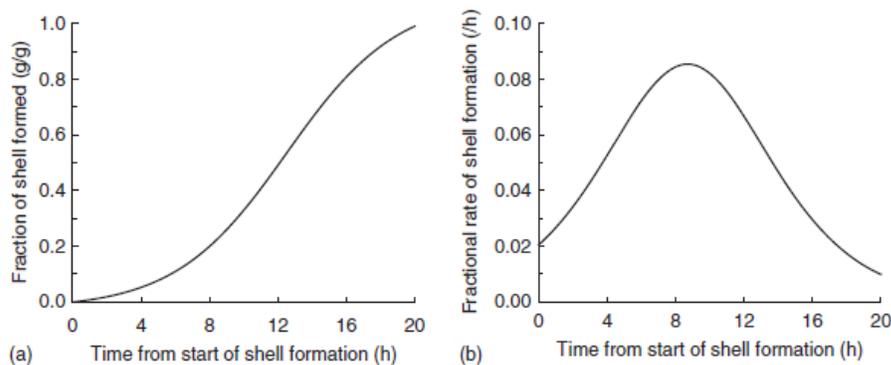
La primera oviposición en la secuencia se produce aproximadamente a las 3 horas del inicio de la fase de luz del día (Tabla 2 y 3). Cada oviposición sucesiva de la secuencia, se produce un poco más tarde en el día. Se produce un día de descanso en la secuencia de postura, cuando se produce la oviposición unas 7 a 9 horas después de iniciado el período de luz (Etches, 1987). En los días en que no se produce ovulación, y por lo tanto no hay formación de cáscara de huevo, el consumo de alimento y la absorción de Ca se reducen con el fin de reducir la absorción de Ca (Hurwitz, 1973; graba, 1987; Scanes et al., 1987; Bar, 2009).

Tabla 2:

Time of day of egg laying in relation to clutch length assuming lights on 5:00 - 22:00 h			
Successive days	9 egg clutch	5 egg clutch	3 egg clutch
1	6:00	6:30	7:00
2	7:00	8:30	11:00
3	8:00	10:30	15:00
4	9:00	12:30	None
5	10:00	14:30	7:00
6	11:00	None	11:00
7	12:00	6:30	15:00
8	13:00	8:30	None
9	14:00	10:30	7:00
10	None	12:30	11:00
11	6:00	14:30	15:00
12	7:00	None	None

Tabla 2: hora del día de la oviposición en relación a la secuencia de postura (9, 5 y 3 huevos por secuencia) asumiendo un fotoperíodo que va desde las 5 am a las 22 pm. Extraído de: Broiler Breeder Production. Autores: Leeson y Summers.

Tabla 3:



*Evolución temporal de la formación de la cáscara. (A) la formación de la cáscara acumulativa (fracción total). (B) Tasa fraccional de la formación de la cáscara (derivado de la formación del cáscara acumulativa) (/h). La formación de la cáscara (fracción del total) es de $1,11 / (1 + e^{-0.3077 (hora - 8,5)}) - 0,08$; parámetros estimados por Van Krieken (1996), basado en datos recogidos de la literatura y reportados por Graba (1987). Extraído de: *Phosphorus and Calcium utilization and requirements in farm animals*. Dorinha M.S.S. Vitti and Ermias Kebreab.*

4.6. SUMINSTRO DE CALCIO Y FÓSFORO

Los niveles plasmáticos de Ca^{2+} y P se restablecen de manera exógena, con el alimento ingerido o, cuando esto no está disponible, a partir de la movilización de fuentes endógenas del hueso medular. La cantidad de Ca y P disponible de fuentes exógenas depende de la ingesta de alimento, de la tasa de pasaje del quimo a través del tracto gastrointestinal, de la presencia de otros componentes dietéticos en el tracto gastrointestinal y de la capacidad de absorción de los diferentes segmentos intestinales. La movilización de las reservas del hueso medular se produce cuando el Ca^{2+} o P del plasma no se pueden mantener por encima de ciertos niveles de umbral y se regula a través de la producción de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ a partir de $25\text{-(OH)}\text{D}_3$.

4.7. ABSORCIÓN DEL CALCIO Y FÓSFORO EN EL INTESTINO

La eficiencia con la que el Ca y P son absorbidos desde el intestino dependen de la cantidad y la forma en la que estos elementos están disponibles en el alimento. La baja ingesta de Ca y P resultan en bajos niveles plasmáticos de estos elementos, y la absorción en el intestino se incrementará (Hurwitz y Bar, 1969; Clunies et al., 1992). En gallinas de alta postura, la absorción de Ca y P, también depende de la etapa de formación de la cáscara de huevo. Estudios de Hurwitz y Bar (1965, 1969) ponen de manifiesto que, cuando la ingesta de Ca, alcanza los requisitos mínimos, entre el 68 y 72% de Ca disponible en el quimo es absorbido durante las etapas tempranas y tardías de la formación de la cáscara del huevo, mientras que la absorción del Ca contenido en el quimo es sólo del 40% cuando no hay formación de cáscara de huevo. En caso de baja ingesta de Ca, donde no se alcanza a cubrir el requerimiento mínimo, la absorción relativa de Ca puede aumentar a niveles de más del 80% en los períodos de formación de cáscara de huevo, pero se sigue manteniendo en un 40% cuando no hay formación de cáscara (Bar, 2009).

La absorción de P aumenta durante los períodos de formación de cáscara de huevo, aunque no tan sorprendentemente como la absorción de Ca (Hurwitz y Bar, 1965). Esto podría deberse a que la cantidad de P necesaria para la formación de la cáscara es de menos de 0,1% de las necesidades totales de P (calculado con base en los valores del NRC, 1994). Un factor que tiene un efecto considerable sobre la eficiencia de absorción de P en el intestino es la cantidad de Ca en el alimento (Hurwitz y Bar, 1965). Altos los niveles de Ca en la dieta resulta en altas concentraciones de Ca^{2+} en plasma, y una reducción de la absorción intestinal de P, mientras que bajas concentraciones de Ca en la dieta, da bajas concentraciones de Ca^{2+} en el plasma y una mayor absorción intestinal de P. Se deduce que altas concentraciones plasmáticas de Ca^{2+} producen baja absorción intestinal de P y viceversa.

A medida que avanza la edad del ave, la actividad de la enzima 1-hidroxilasa renal disminuye, lo que resulta en menores niveles de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. Como consecuencia, en lotes viejos de gallinas en postura, la absorción de Ca en el intestino disminuye,

produciendo una menor calidad del hueso medular y de la cáscara de huevo (Al-Batshan et al., 1994). Después de la muda inducida, la absorción de Ca aumenta nuevamente, y de ese modo mejora también la calidad del hueso medular y de la cáscara, posiblemente debido al aumento de la actividad 1-hidroxilasa renal y por lo tanto el aumento de los niveles de $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$.

El enterocito posee una proteína de membrana que transporta el Ca desde la luz al interior celular. Luego es capturado por una proteína citosólica que la conduce a las organelas o a la membrana basolateral. Ambas proteínas son reguladas por la vitamina D_3 . La salida del enterocito ocurre en forma activa, por una ATPasa, o en contratransporte Ca/Na. Ambos mecanismos también dependen de Vitamina D_3 . Lo mismo ocurre para el caso del P.

4.8. MODELO DEL METABOLISMO DEL CALCIO Y FÓSFORO PARA LA FORMACIÓN DE LA CÁSCARA DEL HUEVO

Desde el momento en el que se enciende la luz del galpón (hora 0), el consumo de alimento comienza y, en consecuencia, aumenta la absorción de Ca y P. Después de 16 horas, la luz se apaga y el consumo de alimento cesa y disminuye la absorción de Ca y P, debido a que las cantidades de estos dos nutrientes, en el buche y en el estómago disminuyen rápidamente. Si la oviposición ocurre 1 hora después de que la luz es encendida, los requerimientos de Ca son pequeñas las primeras 5 horas, porque la formación de la cáscara del huevo recién se está iniciando. La mayor parte del requerimiento del P se destina a la síntesis de yema de huevo, este es un proceso continuo, por lo tanto los requerimientos de P son más regulares durante el día. En la primera hora, los requerimientos de P son más altos que la capacidad de absorción, y por lo tanto se produce movilización de Ca y P del hueso medular. En esta hora, la excreción de P en la orina es bajo, lo contrario ocurre con el Ca movilizado, este no puede ser utilizado o almacenado y por lo tanto se excreta en la orina. Una vez que comienza la formación de la cáscara de huevo, los requerimientos de Ca aumentan y disminuyen en un patrón relacionada a la formación de la cáscara de huevo.

Los requerimientos de Ca son más altos entre las 11 a 17 horas después de la oviposición anterior, mientras que la oferta de Ca de la dieta disminuye después de 16 horas (se apaga la luz y dejan de comer).

La absorción intestinal de Ca es suficiente para alcanzar el requerimiento hasta la hora 18, mientras que la absorción intestinal de P es suficiente para alcanzar el requerimiento hasta la hora 20. Sin embargo, ese excedente de P absorbido por el intestino, no siempre puede ser utilizado para la síntesis de hueso, ya que puede haber un faltante de Ca para apoyar esa síntesis. Esto es lo que ocurre entre las 11 a 18 horas luego de la oviposición, por lo tanto, una parte de P absorbido no se utiliza en estas horas y se excreta en la orina.

A partir de la hora 18 hasta el final del período de oscuridad (hora 24 según el modelo que se explica), el Ca tiene que ser movilizado del hueso para alcanzar el requerimiento, esto da lugar también a la movilización P. Una gran parte de este P movilizado no se requiere para el mantenimiento o la síntesis de cáscara de huevo y, en consecuencia, es excretado en la orina. De esta manera hay dos momentos en los cuales el P no es utilizado y se excreta en la orina. El primer momento ocurre entre 11 a 18 horas, donde es alta la absorción de P, en relación con la disponibilidad de Ca para apoyar la síntesis ósea, de modo que ese excedente de P se elimina con la orina. El segundo momento ocurre durante el horario de 18-24, donde se moviliza Ca y P proveniente del hueso medular, el Ca se utiliza para la formación de la cáscara, pero no se requiere P entonces se elimina por la orina.

El modelo de simulación indica que cuando la oviposición ocurre 1 hora después que la luz es encendida, el 44% del P disponible de la dieta se utiliza para el mantenimiento o se deposita en el huevo y 22% se deposita en los huesos. Por lo tanto, aproximadamente un tercio de la ingesta de P disponible no se utiliza (aproximadamente 107,9 mg/día) por los déficits instantáneos de Ca. Esto indicaría que el P disponible de la dieta podría reducirse en un 22% para obtener un balance de P en hueso de cero y reducir las excreciones de P en al medio ambiente. Sin embargo, las estrategias de alimentación requieren simulaciones en todas las posibles horas de oviposición y suposiciones sobre la frecuencia y distribución de esas horas, por eso es imposible de llevarlo a la práctica.

Cuando la oviposición ocurre unas horas más tarde después de que se enciende la luz (4 horas según la simulación), la mayor parte del proceso de formación de la cáscara se produce durante la noche.

Por lo tanto, los requisitos Ca ocurren especialmente durante esas horas cuando el suministro de Ca desde el intestino es bajo.

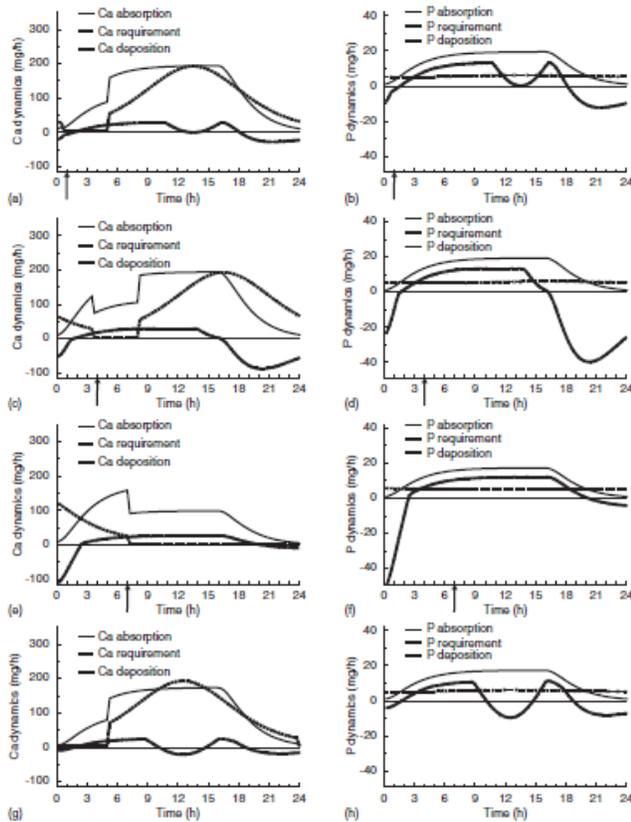
En la simulación, el requerimiento de Ca es mucho mayor que su absorción desde la hora 16 en adelante debido a una alta velocidad de síntesis de cáscara y una tasa decreciente de absorción de Ca, dando lugar a la movilización ósea. En consecuencia, se movilizan grandes cantidades de P que se excretan en la orina. La movilización del hueso en estas horas de oscuridad no es compensado por la síntesis de hueso durante las horas de luz, esto genera una movilización neta de hueso de 102,4 mg P / día (Tabla 4).

Tabla 4:

Hora	Sucesos			
0	Encendido de luz en el galpón, comienza el consumo de alimento y con ella la incorporación del Ca y P			
1	Consumo de alimento			
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12		Alto requerimiento de Ca para formación de la cáscara	Alta cantidad de P absorbido que no puede destinarse a la síntesis de hueso medular por falta de Ca (alto requerimiento), se elimina por orina (1ra eliminación de P)	
13				
14				
15				
16	Apagado de luz en el galpón, cesa el consumo de alimento y con ella la incorporación del Ca y P			
17	Sigue la absorción intestinal de Ca y P			
18				
19	Sigue la absorción intestinal de P y cesa la de Ca		Alta movilización de Ca del hueso medular para alcanzar el requerimiento. Va acompañado de movilización de P que no se necesita y se elimina por orina (2da eliminación de P)	
20				
21				
22				
23				
24				

Modelo de la movilización de Ca y P para la formación de la cáscara. Tabla de elaboración propia del tesista.

Tabla 5:



Dinámica diurna simulada del Ca y P en una gallina en oviposición a la 1 hora (a, b), 4 horas (c, d) y 7 horas (e, f) después de encender la luz o luego de un día de pausa en la postura (g, h). La flecha indica el momento de la oviposición. "Ca absorption" o "P absorption" corresponde a la absorción de Ca o P del duodeno. "Ca requirement" o "P requirement" corresponde al requerimiento de Ca o P para mantenimiento y producción de huevos. "Ca deposition" o "P deposition" corresponde a la síntesis ósea (valores positivos) o movilización ósea (valores negativos). Extraído de: Phosphorus and Calcium utilization and requirements in farm animals. Dorinha M.S.S. Vitti and Ermias Kebreab.

Cuando la oviposición se produce en etapas tardes después de encender la luz del galpón (4 horas en el ejemplo, (Tabla 5 c y d), el mayor proceso de formación de cáscara se produjo durante la noche, por lo tanto, los requerimientos de Ca ocurren especialmente durante esas horas cuando el suministro de Ca desde el intestino es pequeño,

El requerimiento de Ca es mucho mayor que la capacidad absorción desde la hora 16 en adelante debido a una alta velocidad de síntesis de cáscara y una tasa decreciente de absorción de Ca, dando lugar a la movilización ósea. En consecuencia, se movilizan grandes cantidades de P que se excretan en la orina. La movilización del hueso en estas horas de oscuridad no es compensado por la síntesis de hueso durante las horas de luz, y hay movilización neta de hueso en ese día de 102,4 mg P/día (Tabla 5). En este caso, la dieta.

En este caso el P absorbible no se puede reducir debido al agotamiento óseo que ya ha ocurrido. La dinámica del Ca y P de una gallina para una oviposición a la hora 7 y para un día de descanso se muestran en la (Tabla 5: e, a, h). Aunque la ingesta de alimento es menor en el día cuando la oviposición ocurre a la hora 7, la gallina está en balance positivo Ca y P durante la mayor parte del día, ya que no se formará ningún huevo nuevo ese día. Por lo tanto, las pérdidas de P debido al desequilibrio de Ca y P son pequeños y la síntesis ósea (deposición de P en hueso de 89,1 mg/día) ayuda a proporcionar almacenamiento de Ca y P para la siguiente serie de huevos.

En un día de descanso, no hay oviposición, pero las demandas de Ca son altas para formar la cáscara de huevo para el día siguiente. Dado el menor nivel de ingestión de Ca en un día de descanso, ocurre movilización de hueso durante las períodos de máxima síntesis de cáscara, así como durante las horas oscuridad. La cantidad de P no utilizada es por lo tanto más alta que en un día con oviposición a la hora 1 (123,5 y 107,9 mg/día, respectivamente).

Las simulaciones indican que, en promedio, más de dos tercios de la ingesta de P absorbible (221,2 mg P/día) no se utiliza debido a la escasez de Ca y se excreta por la orina. La movilización de P a partir del hueso medular es en promedio 48,3 mg/día, que corresponde a una movilización de Ca de 106,3 mg/día. Dado tal nivel de movilización de

Ca de los huesos, se puede producir problemas de osteoporosis. Una comprensión cuantitativa de la dinámica del Ca y P pueden ayudar a evaluar diversas opciones de manejo para reducir la excreción del P no utilizado, manteniendo la integridad del hueso.

Está claro que la mayoría de la cáscara de huevo se forma durante las horas de la noche, cuando la cantidad Ca en el intestino es relativamente baja. Por lo tanto, las opciones de manejo deben centrarse en el aumento de la absorción de Ca en el intestino durante las horas que se requiere Ca, con el fin de disminuir las pérdidas de P y permitir la reducción de los contenidos de P en la dieta.

Tales estrategias incluyen el aumento del contenido de Ca en la dieta, especialmente en las horas inmediatamente antes de que se apague la luz (por la tarde), aumento de la duración del fotoperíodo y el uso de una fuente de Ca grueso a para aumentar el tiempo de retención en la molleja y por lo tanto aumentar la absorción de Ca durante la noche.

La mayor tasa de retención de Ca en el aparato digestivo, resulta en la mejora de la deposición de P en los huesos y en su excreción en la orina.

La deposición neta P se mejora para cada oviposición, a excepción de la oviposición a las 7 horas. En este día, al no haber formación de cáscara de huevo durante la noche, la gallina no se beneficia de un aumento en la oferta de Ca en las horas de la tarde. La liberación lenta de Ca durante las horas de luz hasta que ocurre la oviposición, reduce la disponibilidad de Ca para la formación de cáscara en esas horas.

En general, la excreción de P no utilizado se reduce de 221,1 a 154,3 mg/día. Otras reducciones son posibles si el balance de P del hueso medular es positivo y el contenido de P en la dieta puede ser reducido. El modelo desarrollado es una herramienta para cuantificar la dinámica del Ca y P dentro de un periodo de 24 horas de oviposición. Por lo tanto, conocer el modelo ayuda a evaluar estrategias de alimentación destinadas a la reducción de la excreción de P al medio ambiente en el guano de las gallinas (Tabla 6).

Tabla 6:

Oviposition (h)	Days/ 100 days	Absorbed	Maintenance	Into egg	Into bone	Not utilized
1	15	311.1	23.8	111.6	122.7	53.0
2	16	311.1	23.8	111.6	85.0	90.7
3	20	311.1	23.8	111.6	29.8	145.9
4	17	311.1	23.8	111.6	-23.7	199.4
5	12	311.1	23.8	111.6	-74.7	250.4
6	10	311.1	23.8	111.6	-122.7	298.4
7	5	277.2	23.8	101.4	83.0	69.0
Pause day	5	277.2	23.8	111.3	34.2	107.9
Weighted average		307.7	23.8	111.1	18.6	154.3

Simulación del flujo de P promediado en un período de 100 días (todo en mg/día) en gallinas ponedoras en distintos momentos de la oviposición después que se enciende la luz. Las aves fueron alimentados Ca grueso. Extraído de: Phosphorus and Calcium utilization and requirements in farm animals. Dorinha M.S.S. Vitti and Ermias Kebreab.

4.9. HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y FÓSFORO

Tres sistemas hormonales están implicados en el control del Ca iónico (Ca_2^+) del plasma, estos son la hormona paratiroidea (PTH) secretada por la glándula paratiroidea, calcitonina (CT) secretada por la células parafoliculares (también llamadas células C) de la glándula tiroides y la 1,25 – dihidroxicolecalciferol (1,25- (OH) D_3) secretada por el riñón.

El flujo de Ca en el tejido uterino es influenciado por la pCO_2 . Una hiperventilación causada por stress térmico produce una baja de la pCO_2 , esto podría restringir el transporte de Ca y afecta al pool iónico de Ca.

Durante la formación de la cáscara del huevo ocurren cambios en las concentraciones de Ca y P inorgánico en el plasma de la sangre y en la orina.

Cuando el huevo en formación toma contacto con las glándulas calcinogénicas del útero, ocurre una disminución de la concentración de Ca_2^+ plasmático y se mantiene en niveles bajos durante varias horas, luego vuelve a subir a los valores previos a la calcificación tres horas antes de la oviposición. La concentración de Ca en la orina durante la formación de la cáscara disminuye entre 7 y 9 veces.

Las concentraciones de P inorgánico en el plasma sanguíneo y la orina también cambian significativamente durante la formación de la cáscara, se cree que deriva de la estimulación de la PTH, que estimula la reabsorción de hueso para contrarrestar la caída en el plasma del Ca_2^+ debido a la formación de la cáscara.

4.10. COMPENSACIÓN RESPIRATORIA Y RENAL

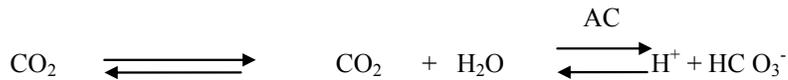
Durante el período de calcificación del huevo se observa un aumento de la frecuencia respiratoria, la compensación renal involucra un aumento de la excreción de H^+ y la reabsorción casi completa de bicarbonato.

La función principal del sistema respiratorio en la regulación ácido-base, es controlar la cantidad total de CO_2 en la sangre. El sistema respiratorio regula el transporte de CO_2 por los eritrocitos y su excreción de los pulmones y la restauración del sistema tampón buffer ácido carbónico/bicarbonato ($\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$) en el plasma y los eritrocitos. El sistema respiratorio es el responsable de la presencia de CO_2 en todos los compartimientos fluidos del cuerpo debido al intercambio de CO_2 o HCO_3^- con sangre.

Existen quimiorreceptores intrapulmonares muy sensibles al CO_2 y a los cambios de pH impulsados por la anhidrasa carbónica, generando respuestas rápidas.

Aire alveolar (gas)

Sangre



AC: enzima anhidrasa carbónica

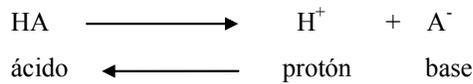
En la compensación renal, los riñones son los responsables de la excreción del exceso de H^+ y aniones tales como H_2PO_4^- , SO_4^{2-} y HCO_3^- que se forman o se liberan por procesos metabólicos asociados con la alimentación, movilización ósea y formación de la cáscara.

4.11. ESTRÉS TÉRMICO

Las aves dependen de la refrigeración por evaporación respiratoria durante el estrés por calor. En la avicultura comercial, el estrés por calor tiene efectos deletéreos sobre la producción de huevos y en la formación de la cáscara. El jadeo aumenta la pérdida de CO_2 , esto causa una disminución de la actividad de la anhidrasa carbónica, llevando a una disminución de HCO_3^- . La hiperventilación por calor lleva a una alcalosis respiratoria por aumento del pH sanguíneo por una disminución del CO_2 y HCO_3^- . Aunque hay poca evidencia directa de causa y efecto, la alcalosis respiratoria por jadeo podría ser la responsable de la caída de producción y aparición de cáscaras finas. Es de destacar que las gallinas ponedoras aclimatadas gradualmente a temperaturas ambientales altas no experimentan alteraciones severas en la termorregulación y en el equilibrio ácido-base sanguíneo, probablemente debido a que regula más eficientemente el volumen y frecuencia respiratoria.

4.12. EQUILIBRIO ÁCIDO BASE EN LA FORMACIÓN DEL HUEVO

Un ácido es cualquier sustancia capaz de donar un protón H^+ y una base es cualquier sustancia capaz de aceptar un protón H^+ .



Bajo circunstancias normales, durante la formación ósea se producen protones de H^+ que terminan en el plasma y en la reabsorción ósea, se retiran H^+ del plasma. Esto tiene gran importancia en el metabolismo de las gallinas ponedoras en la fase de producción, donde las demandas de Ca llevan a una considerable reabsorción de hueso medular. El suministro de tan solo 1 gramo de Ca proveniente del hueso medular, durante un período de unas pocas horas, podría tener un efecto significativo en el equilibrio ácido base. Del mismo modo, la reposición de hueso medular utilizando el Ca en la dieta tendría un efecto similar, pero en la dirección opuesta.

Durante la formación de la cáscara de huevo, se secretan entre 5 y 6 gramos de CaCO_3 (carbonato de Ca) proveniente del hueso medular durante 18 a 20 horas, esto induce una acidosis metabólica severa, por pasaje de protones H^+ desde la luz y la mucosa del útero, al plasma sanguíneo. En 1978 Mongin presentó un modelo que describe la secreción de HCO_3^- (anión bicarbonato) y Ca^{2+} desde las células de la mucosa del útero al lumen del oviducto y el movimiento de H^+ al plasma (Fig. 10)

Durante la formación de la cáscara se secreta HCO_3^- a la luz del útero. El HCO_3^- proviene de la hidratación de CO_2 bajo la influencia de la enzima anhidrasa carbónica. Por cada mol de HCO_3^- secretado a la luz del útero, un mol de H^+ pasa al plasma (acidosis).

Se produce un aumento en la concentración de H^+ en la sangre que perfunde el útero durante la formación de la cáscara. El equilibrio ácido-base de la sangre es sometido a un cambio considerable durante la formación de la cáscara. Desde el momento en que el huevo llega al útero para la deposición de la cáscara se produce una disminución constante en el pH, pCO_2 y HCO_3^- , una vez que se produce la oviposición estos valores vuelven a los niveles anteriores, previos a la deposición de Ca.

La producción de H^+ durante la formación de la cáscara es suficiente para mantener un diferencial de pH a través del útero de al menos 0,03 durante 20 horas y para producir un diferencial máximo promedio de 0,08 aproximadamente por 14-15 horas después de que el huevo entró en el útero (Hodges, 1969).

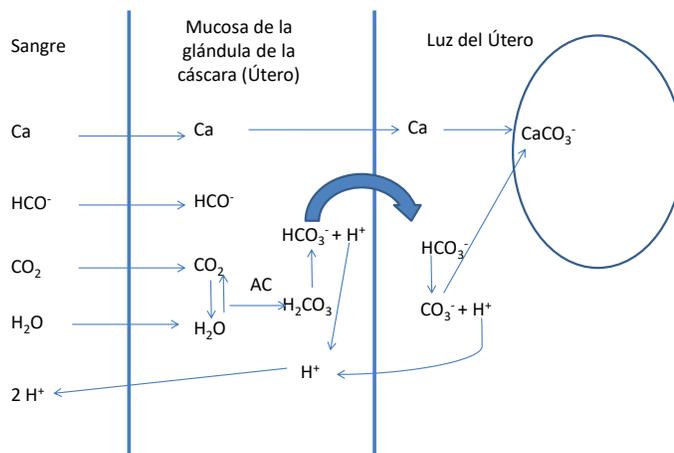


Fig. 11: Modelo de Mongin que describe la secreción de HCO_3^- y Ca_2^+ desde las células de la mucosa del útero al lumen del oviducto y el movimiento de H^+ al plasma. AC: enzima anhidrasa carbónica. Gráfico elaborado por el tesista.

4.13. INFLUENCIA DE LOS ELECTROLITOS DE LA DIETA Y LA CALIDAD DE LA CÁSCARA

Mongin ha propuesto un modelo teórico de homeostasis ácido-base, que establece que: $(Na^+ + K^+ - Cl^-)$ ingerido = (cationes - aniones) excretados + H^+ endógeno + exceso de bases donde el exceso de bases es una medida de la capacidad de la sangre para resistir los cambios en el pH.

Los intentos de distintos investigadores para utilizar este concepto con el objetivo de mejorar la calidad de la cáscara han producido resultados contradictorios.

Los datos de Sauveur y Mongin (1979) indican que no observaron ningún efecto de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) en el intervalo de 160-360 meq/kg de alimento sobre el peso de la cáscara/superficie del huevo.

Hamilton y Thompson (1980) afirmaron que había una falta de efecto sobre la calidad de la cáscara, pero observaron una disminución en la tasa de postura y de la ingesta y a niveles bajos (330) y altos (620) meq/kg de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$). La dieta baja en electrolitos disminuyó además el pH, HCO_3^- y la calidad de la cáscara.

Vogt y Harnisch (1983) observaron una producción de cáscaras más delgadas a bajas (68) y altos (296) niveles de electrolitos, pero no vieron efectos en la tasa de postura y en el consumo.

Stevenson (1983) no encontró efectos del rendimiento de la tasa de postura en una dieta en el intervalo de 137-245 meq/kg de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$). Además no presentó datos del equilibrio ácido-base ni de la calidad de la cáscara.

Hughes (1985) observó una depresión del consumo y de la tasa de producción de huevos a baja (8 y 33) y alta (319 y 418 meq/kg) de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) en dos experimentos separados. En un experimento utilizó gallinas viejas (86 semanas de edad) después de una muda a las 70 semanas, y no encontró ningún efecto de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) sobre el espesor de la cáscara pero sí observó un aumento lineal del pH y HCO_3^- . En el otro experimento con gallinas jóvenes (32 semanas de edad), observó un aumento curvilíneo en el espesor de la cáscara cuando la cantidad de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) era de aproximadamente 150 meq/kg de alimento balanceado.

Existen varias razones posibles para estas discrepancias. En primer lugar, algunas dietas utilizadas por Sauveur y Mongin (1978) y por Hamilton y Thompson (1980) fueron

deficientes en sodio y cloruro y, por lo tanto, cualquier efecto de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) podrían haber sido enmascarados. En segundo lugar, los niveles extremos de ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) utilizados en varios de los estudios se obtuvieron utilizando niveles dietéticos individuales de Na^+ , K^+ y Cl^- más allá de las recomendaciones prácticas, y por lo tanto no de acuerdo con los supuestos del modelo de Mongin (1979). Otras posibles razones se deben a diferencias en la genética de las aves, la edad, el estado sanitario de las gallinas, las condiciones ambientales, y en especial, el grado de estrés por calor.

4.14. BICARBONATO

Las adiciones de bicarbonato producen resultados imprevisibles que van desde extremadamente malos a beneficiosos.

4.15. FÓSFORO INORGÁNICO

Los efectos perjudiciales de la aumento del nivel de P en la calidad de la cáscara son bien conocidos (Britton y Zumbado, 1984). Los aumentos en la dieta P conducen a un aumento del P plasmático y a la disminución de la gravedad específica del huevo (Miles y Harms, 1982). No está claro por qué los niveles altos de P inorgánico en la dieta afecta la calidad de la cáscara, algunas de las explicaciones postuladas incluyen una reducción de la absorción intestinal de Ca, inhibición de la reabsorción ósea (Sauveur y Mongin, 1979), que el fosfato genere una intoxicación de la glándula de la cáscara e inhibición de la formación de cristales de calcita sobre la superficie del huevo y a una alteración del equilibrio ácido-base de la sangre.

En conclusión hay una gran cantidad de datos que demuestran una relación íntima entre el equilibrio ácido-base de la sangre y la formación de la cáscara de huevo. Sin embargo, hay una falta convincente de evidencia que demuestre que la calidad de la cáscara se puede mejorar mediante la manipulación dietética práctica de electrolitos. Parte de la duda se debe a resultados contradictorios obtenidos por diferentes investigadores. En algunos casos en los que se vieron mejoras, no se sabe si se deben a diferencias reales en las tasas metabólicas de los procesos de formación de la cáscara o a diferencias en el consumo de alimento que impactan en la tasa de postura y el tamaño del huevo. Las dificultades de

interpretación surgen también cuando se suman influencias tales como la edad y el estado sanitario del lote, programas de iluminación, calidad del agua, la forma en que se tomaron las muestras, el grado de estrés por el calor y la falta de control sobre los otros ingredientes de la dieta.

5. REQUERIMIENTOS DE CALCIO, FÓSFORO Y VITAMINA D EN LA GALLINA PONEDORA

Definir los niveles de Ca y P en gallinas Leghorns comerciales es un desafío constante para los nutricionistas y productores de huevo, porque las necesidades de ambos minerales, en especial el Ca, están en cambio permanente. Por ejemplo los requerimientos de Ca aumentaron en un 65% (2,27 a 3,75 g/ave/día) desde 1944 a 1984 según lo recomendado por el NRC, en cambio, las necesidades de P fueron decreciendo.

Resulta dificultoso determinar los niveles de Ca necesarios para la gallina de postura, esto genera la formulación de otra pregunta: ¿los requerimientos de Ca han cambiado o ha cambiado la idea del hombre concerniente a los niveles de Ca óptimos para la gallina?

Las razones por las cuales es difícil conocer los requerimientos de Ca en la gallina de postura son los siguientes:

- Cambios en la genética de la gallina y en su eficiencia en la producción de huevos.
- Diferencias de requerimientos dentro de una misma línea genética y entre líneas genéticas.
- Interrelaciones del Ca con otros minerales, especialmente con la vitamina D3.
- Interrelaciones entre el tamaño de partícula de Ca.
- Habilidad de la gallina para ajustar parcialmente el consumo para satisfacer los requerimientos de Ca.
- Miedo de los nutricionistas y productores por exceso de consumo o bajo consumo de Ca.

- Muchos autores han recomendado niveles de Ca en términos de % de Ca dentro de la dieta, sin tener en cuenta la variación en el consumo dependiendo de la energía de la dieta, la temperatura ambiente, la edad del ave y la línea genética.

5.1. REQUERIMIENTOS DE CALCIO

Para asegurar una calidad máxima de la cáscara, se recomienda que las gallinas consuman un mínimo 3,75 g de Ca/gallina/día. En gallinas con problemas de calidad de la cáscara, la ingesta de Ca debe aumentarse hasta en un 1 g de Ca/gallina/día dependiendo de la edad y del tipo de problema de la cáscara. El aumento recomendado en la ingesta de Ca a medida que avanza la edad de la gallina no se debe a un aumento en el requerimiento promedio del lote, ya el mayor requerimiento de Ca ocurre en el pico de postura. Sin embargo, la cantidad de Ca depositada en la cáscara puede aumentar ligeramente con la edad de la gallina y el porcentaje de producción no es factor influyente en el requerimiento diario de Ca, entonces, el requerimiento de Ca para una gallina individual, para un huevo particular, en un día, podría aumentar ligeramente con la edad (Tabla 7). Cuando el porcentaje

Cuando la cantidad de huevos producidos en intervalos mensuales se multiplican por el contenido de Ca en la cáscara, la cantidad promedio de Ca depositada como cáscara de huevo, para un lote de gallinas con 3 meses de producción alcanza los 1,88 g Ca/día. A medida que las gallinas envejecen, la cantidad promedio de Ca depositada en la cáscara por día disminuye. En este caso, disminuyó de 1,88 g Ca/día (lote de 12 semanas) a 1,51 g Ca/día (lote de 48 semanas).

A partir de estos datos, se puede interpretar que el requerimiento de Ca promedio de un lote es más alto en el pico de producción y luego disminuye gradualmente, sin embargo, esto es parcialmente correcto. El requerimiento de Ca de la gallina no disminuye a medida que envejece, lo que ocurre es que la capacidad de la gallina para almacenar Ca para formación de la cáscara es limitado (Lennards and Roland, 1981).

También, la cantidad de Ca depositada sobre el huevo aumenta ligeramente a medida que aumenta la edad de gallina, sobre todo porque a medida que la gallina envejece, el tamaño del huevo se agranda. Por esta razón, se sugiere que el requerimiento de Ca aumenta a medida que aumenta la edad de las gallinas.

Ocurren cambios rápidos en el consumo al momento en que las pollas entran en el ciclo de producción (paso de prepostura a postura). Cerca o al momento del pico de producción, una gallina tiene una ingesta aproximada de 100 g alimento/gallina/día que contiene 3,75% de Ca. Es decir que el consumo de Ca al momento del pico de postura ronda los 3,75 g Ca/gallina/día. Cuando las pollas están entrando en producción, el consumo promedio ronda los 80 g alimento/día. Esto significa que el porcentaje de Ca en la dieta tendría que ser aumentado a 4,69% para obtener 3,75 g Ca/gallina/día, sin embargo, una gallina promedio, que no está en su pico de postura, no necesita consumir 3,75 g Ca/gallina/día. Además no es necesario aumentar el nivel de Ca a 4,69% en la prepostura, porque en ese momento, la mayoría de las gallinas no están en postura, y las que sí están produciendo, lo hacen a una tasa alta y por lo tanto consumen más alimento que aquellas que no están poniendo. Por lo tanto, aunque el consumo promedio de Ca del lote podría ser inferior a 3,75 g Ca/gallina/día, las gallinas jóvenes en el inicio de producción probablemente están recibiendo su requerimiento cuando la dieta contiene 3,75% de Ca.

La deposición de Ca de la cáscara de huevo antes de alcanzar el pico de postura es de un 5% menos en comparación con la cantidad de Ca depositado en la cáscara de huevo después del pico. Una dieta que contenga un mínimo del 3,75% de Ca debe ser adecuada en la mayoría de los casos para las gallinas para consuman 3,75 g Ca/gallina/día en aquellas situaciones, o al menos dentro de un 5% de ese valor (Tabla 7).

Después del pico de producción, cuando la mayoría de las gallinas del lote están en postura y el consumo cae por debajo de 100 g alimento/gallina/día, es importante aumentar el porcentaje de Ca en la dieta. Las gallinas ponedoras necesitan un mínimo de 3,75 g Ca/gallina/día antes de poner cada huevo. A pesar que la mayoría de las gallinas tienen

reservas de Ca del esqueleto suficientes para 4 a 5 huevos de buena calidad, no pueden estar ni un solo día sin Ca en la dieta y mantener la calidad de la cáscara (Roland and Farmer, 1984a), (Tabla 8).

Tabla 7: Recomendaciones de Ca y P para gallinas Leghorn.

Calcium	Phosphorus		Weeks in Production
	Total	Available ^b	
3.75%	.70%	.50%	19–28 ^c
3.75 g/hen/day	700 mg/hen/day	500 mg/hen/day	29–36
4.00 g/hen/day	600 mg/hen/day	400 mg/hen/day	37–52
4.25 g/hen/day	500 mg/hen/day	300 mg/hen/day	53–

Extraído de Egg Shell Quality III: Calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorns DAVID A. ROLAND, Sr. Poultry Science Department, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, AI, 36849*

- Si en gallinas mayores las cáscaras de los huevos se vuelven anormalmente delgadas, aumentar la ingesta de Ca por encima de lo recomendado hasta un máximo de 4,75 g Ca/gallina/día y/o suministrar parte del Ca en forma de CaCO₃.
- Los valores de P disponibles son valores aproximados y se calculan sobre la base de un tercio de P disponible en vegetales.
- Comenzando una semana antes del primer huevo hasta el pico de producción, se alimenta con una dieta que contiene 3,75% de Ca y 0,70% de P. Esto sería aproximadamente entre las 19 a 28 semanas de edad, pero podría ser también a partir de las 17 semanas. Después del pico de producción, los requerimientos de Ca y P se expresan en términos de g/gallina/día en lugar de %. El porcentaje de Ca y P de la dieta se debe ir ajustado en base a la ingesta de alimento para dar con los niveles especificados en g/gallina/día.

Tabla 8: Factores que se afectan por la edad de la gallina.

Criteria	Egg no. ^b			Months in production					
	1&2	5&6	9&10	1	2	3	6	9	12
Egg wt. (g)	41	45	47	50	54	56	57	59	64
Production (% hen day)	—	—	—	58	70	90	86	81	70
Shell wt. (g) ^c	4.20	4.57	4.70	4.96	5.13	5.23	5.27	5.34	5.38
Calcium in eggshell (g) ^d	1.68	1.83	1.88	1.98	2.05	2.09	2.11	2.14	2.15
Avg. calcium deposited per day (g) ^e	—	—	—	1.15	1.44	1.88	1.81	1.73	1.51

Extraído de Egg Shell Quality III: Calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorns DAVID A. ROLAND, Sr. Poultry Science Department, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, AI, 36849*

- Los datos que se muestran son datos extraídos de diferentes estudios.
- El número de huevos representa los huevos utilizados al inicio de la producción para obtener los datos. Por ejemplo, los valores de peso de los huevos para 1&2 representan el peso promedio de los huevos de los dos primeros huevos puestos por las gallinas después de alcanzar la madurez sexual.
- El peso de las cáscaras de gallinas individuales varía entre 2 y 7 gramos.
- El contenido de Ca de la cáscara de huevo se determinó multiplicando el peso de la cáscara por 40%. La cáscara de huevo es aproximadamente 40% Ca.
- El Ca promedio depositado en la cáscara del huevo por día se calculó multiplicando el porcentaje de los tiempos de producción por el contenido de Ca de la cáscara del huevo.

5.2. APETITO ESPECÍFICO POR CALCIO

El término “apetito específico por Ca” se refiere a la capacidad de un animal para consumir selectivamente una fuente rica en Ca con el fin de satisfacer sus requerimientos mínimos.

Las aves han demostrado ejercer preferencias alimentarias y parecen ser capaces de seleccionar una dieta de diferentes fuentes que se adapte a sus necesidades (Henuk y Dingle, 2002). Kempster (1916) y Rugg (1925) informaron que gallinas ponedoras alimentadas con una ración a elección producían más huevos que aquellas alimentadas con una ración mixta. Desde este primer trabajo, la selección de la dieta de las aves se ha

demostrado para aminoácidos específicos, tales como lisina, metionina, proteína total, selenio y calcio. Una revisión realizada por Henuk y Dingle (2002) informó que la práctica de la alimentación a elección fue históricamente realizada con subproductos en el manejo de las aves y la infraestructura disponible en el inicio hasta la mitad siglo 20, permitía esta práctica. A medida que la producción de aves se trasladó de pequeñas explotaciones a piso sistemas intensivos, mecanizados y en jaulas, los sistemas de suministro del alimento cambiaron y pasaron a suministrar dietas completas. Una consecuencia de este proceso ha sido la eliminación de la capacidad de las aves de elegir el tipo de alimento a elección.

Típicamente, los sistemas de alimentación a elección en gallinas ponedoras, separan la ración dietética en una fuente de energía, una fuente de proteína y, una fuente de Ca.

La adaptación de un sistema de alimentación por elección puede estar influido por el período de tiempo necesario para el individuo de asociar las propiedades organolépticas de los diferentes alimentos con sus consecuencias nutricionales.

Sin embargo, los resultados para la alimentación a elección con respecto al Ca mostró que el peso del huevo, el grosor de la cáscara y el índice de conversión fueron mejorando significativamente en gallinas con alimentación a elección en comparación con las gallinas alimentadas con una dieta de mezcla convencional., sin embargo no hubo diferencias en la producción de huevos.

Numerosos estudios en gallinas ponedoras han demostrado que el apetito específico para Ca aumenta en la tarde los días en los que hay formación de huevo en comparación con los días donde no hay formación de huevo.

Se cree que los animales son capaces de reconocer el valor nutritivo de Ca antes de que los signos clínicos de la deficiencia se desarrollen. Esto puede sugerir que la aparición de un apetito específico por Ca no es una respuesta directa a la deficiencia.

El eje hipotalámico-hipofisario-adrenal está involucrado en la conducta alimentaria en lo referente a los aspectos cuantitativos y cualitativos de la dieta. El apetito por el Ca está inversamente relacionada con concentraciones de Ca en la sangre.

5.3. IMPORTANCIA DEL CALCIO EN LA TRANSICIÓN DE POLLA A GALLINA ADULTA

Los resultados de las pruebas en la Universidad de Auburn indican que puede ocurrir un consumo excesivo de alimento cuando las gallinas reciben niveles de Ca en la dieta por debajo del requerimiento. Las gallinas o pollas pueden reconocer entre 1 o 2 días, que no están consumiendo adecuados niveles de Ca (Holcombe et al. 1975; Lennards y Roland, 1981) y en un intento de obtener más Ca, las gallinas, y en especial las pollas que están iniciando la postura, pueden entrar en un sobreconsumo de alimento de hasta un 30% más y de esa manera, aumenta la grasa corporal y la grasa del hígado y una disminución de la calidad de la cáscara en unos pocos días (Roland y Farmer, 1983b).

Por lo general se utilizan 3 métodos para aumentar el nivel de Ca en la dieta de transición de pollita a gallina de postura:

1. Se alimenta las pollas con un alimento que contiene Ca al 1% hasta que alcanzan aproximadamente el 5% de producción, y luego se cambia a una dieta que contenga un nivel de Ca más elevado (3,75%).
2. Se hace un cambio en el nivel de Ca del 1% al 2% a las 18 semanas (aproximadamente 2 semanas antes del comienzo de la producción). Este nivel se mantiene hasta que se alcanza un nivel de producción de aproximadamente de 5%, momento en el cual se vuelve a subir el Ca a 3,75%.
3. Se hace un cambio en el nivel de Ca del 1% a más del 3,75%, aproximadamente 1 semana antes de la puesta del primer huevo.

Roland et al., en 1983b realizaron experimentos para comparar estos diferentes métodos de alimentación, las pruebas consistieron en determinar la influencia en la alimentación, el

consumo, la producción, el peso del huevo, la calidad de la cáscara, la grasa en el hígado, y el peso corporal.

Los resultados indicaron que administrar una dieta que contiene 3,75% de Ca, 1 semana antes del inicio de la producción, no tuvo influencia en el consumo de alimento de las pollas, pero si se afectó el consumo de las gallinas que estaban en postura reduciéndolo. Sin embargo, fue beneficioso porque el sobreconsumo que estaban realizando era para obtener más Ca.

Pollitas de maduración temprana, alimentados con dietas que contienen 1% o 2% de Ca, intentaron compensar la deficiencia, aumentando el consumo de alimento para conseguir más Ca, generando como resultado aves con sobrepeso. Este sobreconsumo puede ser de hasta un 20% más durante 3 semanas en el intento de conseguir más Ca, este sobreconsumo hace que aumente el consumo de energía y por eso el sobrepeso. Otros investigadores han demostrado que las aves desarrollan un síndrome de hígado graso hemorrágico (SHGH) en 2 semanas cuando son alimentados a la fuerza un 15% más de lo que comerían. Por lo tanto, el 20% de consumo extra podría ser análogo a la alimentación forzada y representan un problema.

El consumo extra de alimento en gallinas alimentadas con dietas deficientes en Ca no aumentaron el tamaño del huevo y logró que el costo de alimentación aumentara y se redujera la calidad de la cáscara.

Las pollas de maduración temprana alimentadas con dietas que contenían 1 a 2% de Ca, produjeron huevos con calidad de la cáscara equivalente a la que se espera de las gallinas de 12 a 6 meses de postura respectivamente. Además el sobreconsumo de estas pollas generó un aumento del peso corporal, del peso del hígado, hemorragia del hígado y grasa en el hígado.

Aunque se desconoce la relación del Ca para la síntesis de grasa, los resultados indican que la alimentación inadecuada de Ca en gallinas jóvenes puede aumentar el consumo de alimento y reducir la calidad de la cáscara.

El aumento del consumo de alimento no tiene un efecto beneficioso sobre el tamaño o la producción de huevos, el costo de la ración completa es mucho más costoso que el Ca. Las gallinas que son alimentadas con una ración deficiente en Ca, aumentan el consumo para compensar ese déficit, y eso es costoso. Representa una pérdida económica aún mayor, cuando una vez que las gallinas tienen sobrepeso, deben seguir consumiendo en exceso para apoyar el aumento del crecimiento, incluso cuando consumen dietas que satisfagan su requerimiento de Ca.

Basándose en estos datos, las pollas jóvenes necesitan adecuados niveles de Ca antes o durante la madurez sexual, y no después, sobre todo porque un aumento en la deposición de grasa en el hígado y cuerpo puede ocurrir en un período muy corto.

5.4. REQUERIMIENTO DE FÓSFORO

A pesar de que existe mucha información sobre el tema, el requerimiento de P óptimo es todavía incierto, si se promedian los valores de referencias de la década de 1960, de 1970 y 1980, se evidencia que el requerimiento de P está disminuyendo, esto es exactamente opuesto a lo que ha sucedido a las necesidades de Ca.

Por ejemplo, en 1960 el NRC declaró que el requerimiento de Ca era de 2,46 g/gallina/día frente a los 3,75 g/gallina/día de 1984, un aumento del 52%. En 1960, el NRC definió el requerimiento de P en 429 mg/gallina/día frente a los 350 mg/gallina/día de la edición del NRC de 1984, calculando el P disponible de los vegetales en un 30%.

El requerimiento del P disminuye a medida que envejece la gallina (Sell, 1979), esto es exactamente opuesto para Ca, donde el requerimiento aumenta, a medida que aumenta la edad de gallina (Ousterhout, 1980).

Mikaelian y Venta (1981) y Sell (1979) reportaron que el requerimiento de P disponible era de 460, 360, 260 y hasta 160 mg/gallina/día en diferentes etapas de producción.

Se han llevado a cabo muchos experimentos para determinar el mínimo requerimiento de P para obtener la máxima producción, pero el valor es incierto, los valores pueden ir desde los 288 a los 404 mg/gallina/día de P total. A pesar que varios trabajos publicados demuestran que bajando los niveles de P de la dieta, se mejora la calidad de la cáscara, los resultados no han sido consistentes.

Los resultados de muchos estudios indican que los niveles de 0,30-0,35% de P disponible permite una calidad óptima de la cáscara del huevo, mientras que un nivel demasiado alto de P disponible, por encima de 0,40-0,45%, puede interferir con la absorción intestinal de Ca, resultando en una reducción en la calidad de la cáscara (Hossain y Bertechini, 1998, Usayran et al., 2001, Waldroup et al., 2005).

Por otra parte, la reducción de P disponible a 0,15-0,20% de la dieta, en algunos casos no tiene ningún efecto negativo en lo referente de la calidad de la cáscara (Keshavarz, 2003), sin embargo, niveles así bajos de P en la dieta, pueden afectar negativamente la producción general de huevos.

Hay varias teorías por las cuales se mejoraría la calidad de la cáscara disminuyendo los niveles de P a medida que aumenta la edad de las aves (Taylor, 1965, Hamilton y Sibbald, 1977).

Una de estas explicaciones (Taylor 1965) atribuyó la mejora de la calidad de la cáscara bajando los niveles de P de la dieta, a una reducción en la formación de complejos de fosfato de calcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) insoluble en el intestino. Otra hipótesis es que el P actúa de manera negativa, en forma de cristales tóxicos sobre la glándula de la cáscara, inhibiendo la tasa de síntesis de la calcita (CaCO_3) en la cáscara del huevo. Una tercera explicación, que es la más avalada, sostiene que las gallinas obtienen una parte del Ca para la síntesis de la cáscara de las reservas óseas, para ello requiere movilizar P del hueso (Paul and Snetsinger.

1969; Roland and Harms, 1976; Mongin and Sauveur, 1979). El nivel de P en sangre se asocia directamente con el nivel de P de la dieta (Hurwitz and Griminger, 1962), por lo tanto, un nivel en la dieta reducido en P puede ser beneficioso para mantener un nivel bajo de P inorgánico en plasma. Se cree que la reducción del P plasmático facilita la resorción ósea que libera Ca para la formación de cáscara. Sin embargo, esta hipótesis ha sido cuestionada ya que hay informes que indican que gallinas alimentadas con altos niveles de P también aumentan la resorción ósea (Draper et al., 1972).

Debido a los hallazgos anteriores, se realizaron ensayos para determinar si cuando el nivel de P en la dieta se incrementa o reduce, dependiendo de la fuente de P o de los niveles de Ca en la dieta, son responsables de los cambios en la gravedad específica del huevo (Roland y Farmer, 1982). Los resultados indicaron que la fuente de P o el nivel de Ca en la dieta no tienen influencia en la respuesta de las gallinas al aumento o a la disminución de los niveles de P.

Si bien, en todos los estudios se ve que los niveles bajos de P en el alimento llevan a niveles bajos de P en el suero, esto aumenta la resorción ósea con lo que podría aumentarse la calidad de la cascara y con ello, la gravedad específica del huevo. Otra hipótesis (Garlich 1979), afirma que dietas con bajos niveles de P estimulan la conversión del 25 hidroxicolecalciferol en 1,25 dihidroxicolecalciferol, esto favorecería la cantidad de proteína ligadora de Ca y el transporte de Ca por el intestino y la glándula de la cáscara en el útero.

La reducción de los niveles de P para mejorar la calidad de la cáscara debe hacerse con cautela, debido a las amplias variaciones en la respuesta: producción de huevos, calidad de la cáscara, consumo de alimento. Existe variación del requerimiento de P entre las distintas líneas genéticas. También hay una relación de dietas bajas en P y alta mortalidad debido al agotamiento por calor. Y por último hay todavía una incapacidad para entender los mecanismos implicados.

La determinación del requerimiento absoluto de Ca y P de la gallina es un desafío constante. El hecho de que los requerimientos están en continuo cambio y la aparición de otros factores como el balance catión-anión, pueden influir en la utilización del Ca y P, haciendo que el requerimiento de Ca y P, sea aun más difícil de especificar.

5.5. REQUERIMIENTO DE VITAMINA D

El continuo aumento de la producción de huevos genera la necesidad de una continua reevaluación de las especificaciones de los requerimientos de vitamina en la dieta. Sin una razón fisiológica más que los datos recolectados a través de distintos trabajos de investigación, se sugiere la necesidad de aumentar los niveles de vitamina en la dieta entre un 0,6-1,0% anual, dependiendo de la línea, simplemente para mantener la ingesta de vitamina constante por unidad de salida (Leeson, 2007).

Los niveles de vitamina en la dieta por encima de los requerimientos para sostener los objetivos de producción, pueden también impactar en forma positiva en el valor nutritivo del huevo, en la salud y bienestar de las aves. Las vitaminas hoy en día pueden ser considerados como nutrientes clásicos, nutracéuticos y moduladores inmunes.

La vitamina D (colecalfiferol) es uno de los factores más importantes de la dieta responsables del crecimiento normal, de la producción de huevos, de la calidad de la cáscara y la reproducción de las aves. A diferencia de otras vitaminas, el 7-dehidrocolesterol en la piel se convierte en vitamina D₃, en presencia de radiación ultravioleta. En la industria avícola moderna las aves se crían en galpones el interior sin el contacto directo con el sol. El colecalfiferol o vitamina D sufre dos hidroxilaciones secuenciales, la primera en el hígado para formar 25 hidroxivitamina D₃ y la segunda en el riñón para formar el metabolito activo 1,25 dihidroxivitamina D₃.

Este último metabolito es una hormona esteroide, que desempeña un papel importante en la movilización mineral ósea y en la absorción intestinal de Ca y P, sirviendo de manera

activa, al aumento de las demandas de Ca, manteniendo la homeostasis del Ca a través del sistema endocrino de la vitamina D en la gallina ponedora.

Debido a los continuos problemas de mala calidad de la cáscara del huevo en la industria avícola, los científicos han investigado el valor de la alimentación de la vitamina D₃ y sus metabolitos. La mayor parte de la investigación apoyada por el NRC (National Research Council) recomienda el requerimiento de Vitamina D₃ en la gallina ponedora en 500 UI de la vitamina D₃/kg de alimento balanceado. Sin embargo, la evidencia sugiere que la 25 hidroxivitamina D₃, es 2 a 2,5 veces más activa que la vitamina D₃ para la normal producción de huevos y calidad de la cáscara. El más activo de los metabolitos de la vitamina D es el 1,25 dihidroxivitamina D₃, tiene una actividad antirraquítica 10 veces mayor que la vitamina D₃. Sin embargo, la alimentación de gallinas ponedoras con 1,25 dihidroxivitamina D₃ como su única fuente de vitamina D, produce una alta incidencia de mortalidad embrionaria antes de la eclosión. Se sospecha que la 1,25 dihidroxivitamina D₃ no es transferida o almacenada en la yema o la membrana vitelina por carecer de receptores específicos para la 1,25 dihidroxivitamina D₃ (Ameenuddin, 1982).

En la actualidad, encontramos en el mercado ambos metabolitos de la vitamina D, por un lado se encuentra el HyD de DSM comercializando la vitamina D₃ y el Panbonis de Herbonis Animal Health, forma comercial de la 1,25 dihidroxivitamina D₃ (forma activa).

6. MATERIAS PRIMAS

6.1. FUENTES DE CALCIO

El carbonato de Ca (CaCO₃) es la principal fuente de calcio (Ca) utilizada en alimentación animal. Se obtiene directamente de yacimientos de piedra caliza, tras secado y trituración a distintas granulometrías. Su contenido en Ca está en torno al 38% dependiendo de la riqueza en caliza de la roca original. Debido a su origen, el CaCO₃ contiene cantidades

variables de minerales, tales como Mg y Fe. El CaCO_3 se presenta en forma de polvo o piedra gruesa, siendo la primera presentación la más frecuente. En ponedoras que reciben alimento balanceado en harina se prefiere que un 30-50% del CaCO_3 de la dieta vaya en forma granular (piedra), a fin de aumentar el tiempo de retención en la molleja y mejorar la calidad de la cáscara. Además, el CaCO_3 granular mejora la textura del alimento facilitando la fluidez del mismo, pudiendo mejorar el consumo.

La conchilla de ostras y de moluscos es otra importante fuente de Ca que debido a su origen marino, incorpora cantidades variables de Mn, Mo y otros oligoelementos. Previo a su utilización, estos productos sufren un tratamiento térmico a fin de eliminar la posible contaminación microbiana. Para ello se utiliza ácido fosfórico con secado posterior a 60°C durante 3 minutos. En estos casos el contenido en P de la conchilla puede llegar al 1%. A veces, especialmente con conchillas de alto valor económico, se calienta a altas temperaturas ($300\text{-}500^\circ\text{C}$). El Ca de la conchilla tiene una disponibilidad similar al de la piedra caliza, pero es menos soluble y de tamaño más grueso, por lo que se libera más lentamente en contacto con el ácido clorhídrico producido en el proventrículo. Por tanto, la suplementación con conchilla a últimas horas de la tarde podría mejorar la calidad de la cáscara, especialmente en aves viejas, épocas de calor y alimentos con bajo contenido en Ca.

El control de calidad del CaCO_3 incluye la determinación de la humedad (problemas de apelmazamiento), el contenido en Ca y la solubilidad en HCl 0,2 N como medida indirecta de su digestibilidad in vivo.

6.2. VALORES NUTRICIONALES DE LAS DIFERENTES FUENTES DE CALCIO

Tabla 9:

	Carbonato de Ca	Conchilla de ostras	Conchilla de moluscos	Carbonato dolomítico
Humedad, %	2.0	0.3	1.0	0.5
Cenizas, %	98	97.5	96.7	97
Ca, %	38.6	37.2	37	21
P, %	0.01	0.03	0.02	NDa
Sodio, %	0.07	0.40	0.30	ND
Potasio, %	0.07	0.06	0.05	ND
Cloro, %	0.02	0.08	0.05	ND
Magnesio, %	0.3	0.28	0.35	11.0
Azufre, %	0.07	0.08	0.08	ND
Hierro(mg/kg)	620	400	400	ND
Cobre (mg/kg)	12	8	8	ND

a ND: Datos no disponibles.

b Contenido muy variable (rango entre 300 y 1000 mg/kg para la conchilla de ostras).

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

6.3. TAMAÑO DE PARTÍCULA DE CALCIO Y SOLUBILIDAD

No existen diferencias en la calidad de la cáscara si se ha usado una piedra caliza o conchilla, si ambas son de buena calidad. Una piedra caliza o conchilla para que sea de buena calidad debe contener 38-39% de Ca. Para garantizar la máxima calidad de cáscara, se recomienda que las gallinas consuman un mínimo de 3,75 g de Ca por día. En gallinas

ponedoras mayores o con problemas de calidad de la cáscara, la ingesta de Ca debe ser aumentada 1,00 gramo más dependiendo de la gravedad y del tipo de problema de calidad de la cáscara.

Si las gallinas consumen estos niveles de Ca por día, su presencia como partículas grandes o partículas de baja solubilidad, de piedra caliza o conchilla en la dieta tiene diferencia. Si por alguna razón (diseño del comedero, separación del comedero, temperatura ambiente, nivel de Ca en la dieta, etc.) las gallinas no consumen cantidades adecuadas de Ca, o son incapaces de utilizarlo de manera eficiente, se recomienda un tamaño de partícula grande de piedra caliza o conchilla.

La solubilidad de la piedra caliza o conchilla que tienen el mismo tamaño de partícula puede variar desde 15 hasta 27,3%, Debido a que varios factores influyen en la solubilidad del carbonato de Ca, el tamaño de partícula óptimo a utilizar para obtener la máxima calidad de la cáscara puede variar (Rabon Roland, 1985).

Desafortunadamente, no existen datos detallados para mostrar la mejor relación de tamaño de las partículas de piedra caliza de grano fino. La mayoría de los investigadores utilizan aproximadamente 2/3 partes de carbonato de Ca como partículas grandes y 1/3 como partículas fina (Tabla 10 y Fig. 11).

Tabla 10:

Tamaño de las partículas	Iniciación, crecimiento, desarrollo	Pre-postura	Semanas 17-37	Semanas 38-48	Semanas 49-62	Semanas 63+
Fina (0-2 mm)	100%	50%	50%	45%	40%	35%
Gruesa (2-4 mm)	-	50%	50%	55%	60%	65%

Extraído de Hy Line variety W36. Comercial Management Guide 2009-2011.

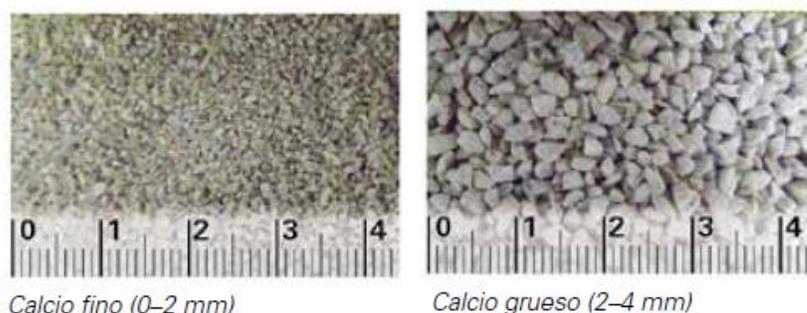


Fig. 11: Tamaño de partícula de Calcio. Extraído de Hy Line variety W36. Comercial Management Guide 2009-2011.

6.4. FUENTE DE FÓSFORO

El Fósforo (P) contenido en los alimentos puede ser de origen vegetal, animal o mineral. El valor nutricional del P vegetal depende de su porcentaje en P fitico y de la actividad fitásica endógena de la materia prima. Estos valores son muy variables por lo que es difícil prever el contenido en P digestible o disponible de los vegetales. Los fitatos son complejos orgánicos presentes en los vegetales caracterizados por su alto contenido en P.

Probablemente sea la forma en la que las semillas concentran el P para tener disponibilidad del mismo durante el proceso de germinación y posterior crecimiento de la plántula. Por tanto, el contenido en P fitico es superior en granos de cereales y semillas de leguminosas que en las harinas procedentes del resto de la planta. A mayor contenido en fitatos y menor actividad de las fitasas endógenas del vegetal, menor es la disponibilidad del P. Así, el contenido en P fitico de los cereales es del 55 al 75% del P total y en las harinas proteicas más comúnmente empleadas (complejo soja) del 60 al 85%. Por otra parte, la actividad fitásica endógena es muy elevada en el trigo y algo más reducida en la cebada. En cambio, el contenido de fitasas endógenas en el maíz, soja y girasol es muy limitado. Las enzimas endógenas son muy sensibles al calor por lo que su importancia práctica en alimentos granulados es limitada. Un tratamiento térmico elevado puede ser positivo mejorando la disponibilidad del P, o negativo reduciendo la actividad de las fitasas endógenas.

En cualquier caso, es necesario suplementar los alimentos para gallinas ponedoras con fuentes de P de alta disponibilidad. El P de origen animal es muy disponible, especialmente si los componentes óseos se muelen finos. El P de origen mineral es la fuente de elección de aporte de P en alimentos comerciales. Además de P, los fosfatos aportan cantidades importantes de Ca y minerales tales como el Na, K, Mg y Fe, según el producto empleado.

Tradicionalmente, el fosfato bicálcico dihidratado ha sido la forma química más utilizada en alimentos y se le asignaba arbitrariamente una disponibilidad del 100%. La disponibilidad del P del resto de materias primas se estimaba de forma relativa en relación con el valor del fosfato bicálcico. Por tanto, este método (aún recomendado por el NRC, 1994, 1998) da valores de disponibilidad del P superiores a la digestibilidad real, especialmente en el caso de materias primas de origen animal o mineral. Además, ciertas fuentes minerales cuyo P es más disponible que el del fosfato bicálcico presentan valores de disponibilidad superiores al 100%, lo que tiene difícil explicación biológica y no siempre es tenido en cuenta.

Otras fuentes minerales de P disponibles en el mercado son el fosfato monocálcico, el fosfato monobicálcico y el fosfato bicálcico anhidro. La disponibilidad del P de estas fuentes depende de numerosos factores incluyendo la naturaleza de la roca inicial y el proceso de fabricación. El proceso tradicional de obtención del fosfato bicálcico consiste en tratar la roca fosfórica (fosforita, fluorapatita, fosfato tricálcico con 4% fluor o fosfato crudo) con un ácido fuerte (HCl ó H₂SO₄) y precipitar el fosfato cálcico resultante con una fuente de Ca (CaCO₃) a altas temperaturas. El proceso da lugar a una sal cálcica y al fosfato bicálcico dihidratado cuyo contenido en P varía entre el 17 y el 18% en función de las impurezas que contiene. Los fosfatos bicálcicos con más del 19% de P se corresponden con fosfatos anhidros y se obtienen por eliminación del agua de hidratación por desecación. Estos productos suelen incorporar cantidades variables de CaCO₃. Los fosfatos bicálcicos así obtenidos pueden a su vez reaccionar con el ácido fosfórico sobrante del proceso dando lugar, según las condiciones del mismo, a fosfatos monobicálcicos o monocálcicos más puros, que pueden contener más de un 20% de P.

El fosfato de roca defluorinado contiene alrededor de un 18% de P y es una mezcla de fosfatos tricálcico y sódico-cálcico. Su disponibilidad es aceptable pero inferior a la de los fosfatos bicálcicos.

Los fosfatos comerciales actuales no constituyen una entidad química definida sino que son mezclas de fosfato monocálcico, fosfato bicálcico, ácido fosfórico, carbonato cálcico e impurezas. En todos los casos, el proceso de fabricación conlleva una fase de calentamiento y purificación que reduce el nivel de contaminantes de la fosforita inicial, especialmente de Flúor y de metales pesados. Los fosfatos también pueden obtenerse mediante reacciones químicas directas utilizando ácido fosfórico y carbonato cálcico, o bien haciendo reaccionar este ácido con diversas fuentes de Na, K, Mg o NH₄OH, dando lugar a los fosfatos correspondientes o mezclas de ellos.

La estandarización de la composición del producto comercial, junto con el análisis químico, son la base a utilizar en la selección de proveedores de fosfatos. Los puntos clave a considerar para valorar la disponibilidad de los diversos fosfatos comerciales son los siguientes:

Disponibilidad de las distintas fuentes de fosfatos:

- 1) fosfatos monocálcicos > bicálcicos > tricálcicos
- 2) fosfatos sódicos (el de mayor solubilidad) > cálcicos > magnésicos
- 3) fosfatos hidratados > anhidros
- 4) los productos mejor procesados (con menor contenido en F, Pb, Va, As, Hg, etc, y mayor uniformidad entre lotes) suelen ser más disponibles.

La disponibilidad y digestibilidad del P de las distintas fuentes comerciales se resumen en las tablas 12,13,14 y 15 donde se toma como patrón (valor 100) el fosfato monosódico. Hay tablas que utilizan al fosfato bicálcico como patrón y debe tenerse en cuenta cuando se compara la disponibilidad del P, ya que varía dependiendo de cuál fuente de fosfato se ha utilizado como patrón.

El contenido de metales es un punto importante a tener en cuenta en los fosfatos comerciales. La legislación europea sobre sustancias indeseables establece niveles máximos de Flúor inferiores al 0,2%. Además, establece criterios muy restrictivos para Arsenico (<4

mg/kg), Cadmio (<10 mg/kg), Plomo (<15 mg/kg) y Mercurio (<0,1 mg/kg), así como para las Dioxinas.

El control de calidad de los fosfatos exige determinar el contenido en P y Ca, la relación Ca:P, la presencia de CaCO₃ y la solubilidad en ácido cítrico 2% o en citrato amónico (>95%). Una solubilidad en agua superior al 80% indica predominancia de P en forma monocalcica y una solubilidad inferior al 50% indica mayor presencia de la forma bicalcica. Asimismo, el pH está en torno a 7 para el fosfato bicalcico dihidratado y es menor de 5 para los fosfatos monocalcicos y monoamonicos.

La utilización de fitasas en alimentos con contenidos en P fitico superiores al 0,22-0,25%, permite reducir el empleo de fosfatos en alimentos con el consiguiente beneficio para el medio ambiente. De forma general se ha establecido en aves valores de P disponible en la matriz nutricional de la fitasa que van desde 425 a 845% por cada 1.000 U de fitasa en el alimento. Estos valores dependen, entre otros factores, del tipo de fitasa utilizada, el nivel de P fitico y la composición del alimento, y la acidez del contenido estomacal.

Tabla 12: Coeficientes de digestibilidad del P

Fosfato	P Disponible %	P Digestible aves %
Monosódico	22.5	91 ± 2
Bicalcico dihidratado	18.0	79 ± 3
Bicalcico anhidro	20.0	68 ± 4
Monocalcico monohidratado	22.9	83 ± 2
Monobicalcico monohidratado	21.9	81 ± 4

Valores basados en INRA (2003, 2007), Bleukx (2005), CVB (2005) y otros. Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

6.5. VALORES NUTRICIONALES DE LAS DIFERENTES FUENTES DE FÓSFORO

Tabla 13:

	Hna. de huesos desgelatinizados	Fósforo de roca defluorinado	Fósforo bicalcico anhidro	Fósforo bicálcico dihidratado
Humedad, %	3.0	0.6	0.3	1.2
Cenizas, %	71.0	99.0	88	80
Ca, %	30	32.0	27	24
P, %	14.0	18.0	20.1	17.7
Sodio, %	0.45	3.80	0.03	0.08
Potasio, %	0.20	0.09	ND	0.12
Cloro, %	0.08	ND	<0.6	0.05
Magnesio, %	0.75	0.29	ND	0.60
Flúor, %	ND	0.20	ND	0.15
Azufre, %	0.35	0.13	ND	1.10
Hierro, mg/kg	840	8200	ND	4000
Cobre, mg/kg	15	45	15	14

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 14:

	Fósforo monobásico hidratado	Fósforo monobásico hidratado	Fósforo monobásico monohidrato	Fósforo de magnesio hidratado
Humedad, %	0.6	1.0	0.5	2.5
Cenizas, %	83.0	78	81	-
Ca, %	20.8	17.8	-	1
P, %	21.1	22.6	22.5	14
Sodio, %	0.28	0.08	16.6	-
Potasio, %	0.15	0.13	ND	-
Cloro, %	0.10	0.11	ND	-
Magnesio, %	0.6	0.10	ND	26
Flúor, %	0.17	0.14	0.001	-
Azufre, %	0.90	0.70	ND	-
Hierro, mg/kg	4000	4000	ND	-
Cobre, mg/kg	9	8	ND	-

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 15:

	Fosfato triple de Na, Ca y Mg hidratado	Fosfato cálcico-magnésico hidratado	Fósforo monoamónico
Humedad, %	-	0.5	0.5
Cenizas, %	-	ND	24
Ca, %	9	10.5	0.40
P, %	17	20	26.4
Sodio, %	12	ND	0.09
Potasio, %	-	ND	0.15
Cloro, %	-	ND	ND
Magnesio, %	5	10.0	0.50
Flúor, %	-	0.15	0.10
Azufre, %	-	ND	0.75
Hierro, mg/kg	-	ND	7500
Cobre, mg/kg	-	ND	10

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

6.6. HARINA DE CARNE

Corresponden a las harinas de carne y hueso procedentes fundamentalmente de productos de origen vacuno. El producto original incluye en mayor o menor medida vísceras, huesos, sangre, cabezas, tejidos magros y grasa. Las harinas de carne o huesos se obtienen por calentamiento, molienda y desecación de subproductos de matadero. Debe estar

prácticamente exento de pelos, cuernos, cascos y contenidos digestivos. El proceso de fabricación incluye:

- 1) molienda para facilitar un procesado térmico homogéneo.
- 2) cocción (133°C durante 20 minutos a 3 bares de presión) para esterilizar el producto y fundir la grasa.
- 3) sedimentación y separación de parte de la grasa. La grasa se extrae por presión, por lo que el contenido medio en la harina es bastante elevado (12-15%). Cuando la grasa se extrae casi completamente con solventes orgánicos, el contenido de grasa es menor. La harina desengrasada es más palatable y fácil de conservar, pero tiene un valor energético notablemente inferior (del orden de 600 kcal/kg). Además, y en función del proceso utilizado, la digestibilidad péptica de estas harinas desengrasadas puede verse comprometida.

La harina de carne presenta una considerable variabilidad en su composición química, por lo que es conveniente clasificarlas con 3 números que indican su contenido en proteína, grasa y cenizas, respectivamente. Los principales factores de variación del producto final son la heterogeneidad del producto inicial, la comercialización de mezclas procedentes de carne de distintas especies y el sistema de extracción de grasa. Las harinas de carne y huesos son buenas fuentes proteicas y de aminoácidos esenciales, el sobrecalentamiento (>140°C) reduce la disponibilidad de los aminoácidos, especialmente de la lisina y puede reducir el valor energético de la grasa. La variabilidad es muy elevada (CV=37%).

La grasa es de buena calidad, con un contenido en ácido linoleico en torno al 8-12% en función a la materia prima original y con una digestibilidad elevada. Las harinas de carne presentan también un contenido elevado en Ca, P disponible, selenio, hierro y vitamina B12.

Entre los principales inconvenientes para su utilización se encuentran su gran variabilidad, baja palatabilidad en caso de enranciamiento de la grasa, el elevado riesgo de contaminación microbiana y posibilidad de adulteraciones. Harinas con alto contenido en grasa o de molienda muy fina presentan problemas de apelmazamiento, por lo que fluyen

con dificultad por las tolvas, se acumulan en zonas muertas de los transportadores y se apelmazan en silos y celdas. Por el contrario, molindas groseras con presencia de trozos de huesos y otras partículas groseras pueden reducir la utilización del P y posiblemente del Ca y dificultan el muestreo a la vez que empeora el aspecto y la calidad del gránulo.

El control de calidad debe permitir detectar fraudes y clasificar a los proveedores. Es también importante controlar la humedad, cenizas insolubles en HCl, calidad de la grasa y de la proteína (digestibilidad en pepsina), así como la frescura de la materia prima original (aminas biógenas, nitrógeno amoniacal), la bacteriología y el grado de tratamiento térmico recibido (solubilidad de la proteína bruta). Niveles altos de proteína indican mayor proporción de carne y menor de hueso y, como consecuencia, mayor calidad proteica.

Tabla 16: Composición química de la Harina de Carne

HUMEDAD %	PB %	EE %	CENIZAS %
6,4	43,7	15,4	28,0

FB %	FDN %	FDA %	LAD %	ALMIDON %	AZUCARES %
1,0	1,5	1,1	0,0	0,0	0,0

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 17: Composición de ácidos grasos de la Harina de Carne

Ac. Mirístico	Ac. Palmítico	Ac. Palmitoleico	Ac. Estearico	Ac. Oleico	Ac. Linoleico	Ac. Linóleico	Suma Ac. Grasos con C>20
C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
0,31	3,30	0,53	2,01	5,95	1,17	0,11	0,12

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 18: Macrominerales de la Harina de Carne

Ca %	P %	Pdisp.%	Pdig. Aves %
7.80	4.00	3.60	2.48

Na %	Cl %	Mg %	K %	S %
0.70	0.65	0.56	0.65	0.45

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 19: Microminerales de la Harina de Carne

Cu %	Fe %	Mn %	Zn %	Vit. E %	Biotina %	Colina %
11,0	640,0	25,0	120,0	1,0	0.14	2150,0

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 20: Valor Energético (Kcal/kg) de la Harina de Carne

EMAn	
pollitos <20 d	broilers/ ponedoras
2170 kcal	2400 kcal

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 20: Valor Proteico de la Harina de Carne

% Digestibilidad de la proteína en aves	76
-----------------------------------------	----

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 21: Aminoácidos presentes en la Harina de Carne y su digestibilidad

AAs	% Digestibilidad
Lys	74
Met	72
Met + Cys	64
Tre	72
Trp	75
Ile	82
Val	80
Arg	82

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Tabla 22: Límite de inclusión de Harina de Carne en dietas de ponedoras

Pollitas inicio (0-6 sem)	Pollitas crecimiento (6-20 sem)	Postura comercial
4%	7%	6%

Extraído de Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Es importante tener en cuenta que:

La legislación europea actual prohíbe su uso en alimentos de aves. Si la composición de la harina de carne es muy variable, reducir los niveles de inclusión máximos. Asegurar de Salmonellas y otros contaminantes, en caso de duda, no utilizar en alimentos de primeras edades y reproductoras.

6.7. FITASAS

El ácido fítico o fitato es un complejo de Ca o de magnesio con mio-inositol (1, 2, 3, 4, 5, 6-hexa dihidrógeno fosfato) y se considera como la forma de almacenamiento primaria de P e inositol en casi todas las semillas. El P del fitato constituye el 60 al 80% del total de P de semillas de cereales, leguminosas y oleaginosas (Tabla 23). La utilización de P fítico por las aves de varía de 0 a más del 50% dependiendo de la fuente de fitato, la edad de las aves, y los niveles dietéticos de Ca y vitamina D3. En general se supone que aproximadamente un tercio (30%) del P de las materias primas de origen vegetal en la ración de aves no es P ligado al fitato, por lo tanto es biológicamente disponible para las aves (NRC, 1984).

El ácido fítico es un anión que tiene 6 grupos fosfato en una molécula de 6 carbonos, posee un peso molecular de 660. En pH neutro, los grupos fosfato del ácido fítico tienen 1 o 2 átomos de oxígeno con cargas negativas, por lo tanto, los cationes son capaces de quelar fuertemente con 2 grupos fosfato o débilmente con un único grupo fosfato. El fitato es un ácido fuerte y forma una amplia variedad de sales insolubles con cationes divalentes o trivalentes en pH neutro. El fitato forma complejos con cationes en el siguiente orden descendiente de fuerza: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$. Aunque el Ca tiene la unión más baja a la molécula de fitato, el mayor impacto del fitato en la nutrición mineral (sin considerar al P) es la disponibilidad de Ca. Debido a su fuerte potencial quelante, el ácido fítico y sus derivados pueden unirse a minerales esenciales (Ca, zinc y cobre), haciéndolos no disponibles o menos disponibles para su absorción.

En el tracto digestivo, interacción entre el fitato y la proteína es de tipo iónico y forman distintos complejos dependiendo del pH. A pH ácido (pH 2), el ácido fítico lleva una carga fuertemente positiva y dado que las proteínas tienen cargas negativas, se forma un complejo binario proteína-fitato. A pH alcalino, tanto el fitato como las proteínas están cargadas negativamente, se producen fuertes interacciones electrostáticas, de modo que los cationes multivalentes tales como el Ca, median en la formación de complejos fitato-proteína-minerales. Estos complejos son muy insolubles y presentan mayor resistencia a la digestión por enzimas proteolíticas, por lo tanto, la utilización de proteínas de la dieta se reduce.

Los complejos de Ca-fitato en el intestino, en contacto con ácidos grasos, forman jabones insolubles, lo que reduce la digestibilidad de la grasa y junto a esta, disminuye también la absorción de vitaminas liposolubles (A,D,E,K), siendo de importancia la vitamina D por su rol en la calcificación del hueso.

El fitato también inhibe por alteración de la configuración de la proteína, las enzimas digestivas pepsina, α -amilasa y la tripsina, afectando la digestibilidad de las proteínas e hidratos de carbono de la ración.

La fitasa tiene la capacidad de contrarrestar los efectos anti-nutricionales del fitato por desfosforilación a inositol y P inorgánico. Se describen dos tipos de fitasas: 3-fitasa:

hidroliza el enlace éster de mio-inositol hexa fosfato en tercera posición a D- mio-inositol 1, 2, 4, 5, 6, - pentafosfato y ortofosfato y la 6-fitasa: hidroliza primero la posición 6 hexafosfato de mio-inositol a 1-L-mio-inositol- 1,2,3,4,5 - pentafosfato y ortofosfato. Posteriormente, los enlaces éster en el sustrato se hidrolizan a diferentes velocidades.

La fitasa microbiana es producida por hongos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus ficcum*, *Aspergillus oryzae*), bacterias (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomonas* spp.), levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Schwanniomyces castelii*) y ciertos organismos del suelo.

En la mayoría de los casos, la producción comercial de fitasa para su uso como suplemento de enzimas exógenas para la dieta de animales, pertenecen a cultivos microbianos. Dentro de las diversas fitasas, la que proviene del *Aspergillus niger*, es la que tiene mayor actividad fitasa. El *Aspergillus ficcum* es el que produce mayor concentración de fitasa y es termoestable, es capaz de retener hasta el 40% de su actividad, después de ser sometido a una temperatura de 68 °C durante 10 minutos.

La actividad de fitasa se mide en términos de P inorgánico (Pi) liberado a partir del ácido fítico, esta actividad se conoce como unidad de fitasa (FYT). Una FYT se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1μ mol de fosfato inorgánico por minuto a partir de 5,1 mM de fitato de sodio a pH 5,5 y 37 ° C (Engelen et al., 1994).

El contenido de fitasa intestinal endógena es muy bajo en las aves jóvenes, pero aumenta con la edad. La adición de fitasa microbiana a la formulación de alimentos balanceados permite mejorar el rendimiento, la retención de P, Ca, Zn y Cu suministradas a las aves. La fitasa también puede aumentar la energía metabolizable aparente y la digestibilidad ileal de la proteína y aminoácidos.

En comparación con los pollos de engorde, ha habido menos investigación para confirmar el efecto beneficioso de la fitasa en gallinas ponedoras, sin embargo hay estudios que demuestran la influencia de fitasa microbiana en la mejora del rendimiento de las ponedoras en cuanto a consumo de alimento, la producción de huevos y el peso del huevo.

La adición de fitasa a las dietas de aves ha demostrado consistentemente que permite la reducción de la inclusión de P inorgánico (Pi). Sin embargo, el número de unidades de fitasa requerida para reemplazar 1 g Pi varía considerablemente dependiendo de la edad o el estado fisiológico del animal. Las tasas de sustitución tienden a no ser lineales, pero aumentan de manera exponencial con concentraciones crecientes de fitasa. Las aves de mayor edad parecen requerir menos fitasa para sustituir 1 g de Pi en comparación con las aves más jóvenes. La adición de 750 unidades de fitasa microbiana por kg de alimento balanceado puede sustituir la administración de P inorgánico en un 0,08% en dietas a base de maíz o trigo en aves en crecimiento.

El P es uno de los elementos más costosos en la alimentación de las aves. La sustitución simultánea de fuentes inorgánicas de P por las fitasas, lleva a una mejor eficiencia alimenticia y por lo tanto a una producción avícola más económica. Singh y Khatta, 2004, demostraron que la adición de fitasa en dietas a base de maíz y trigo, redujeron el costo de producción en un 10% y 6% respectivamente, sin afectar el crecimiento de los pollos de engorde.

Una mayor retención de nutrientes en el animal reduce la contaminación del medio ambiente. Por lo tanto, la suplementación con una fitasa microbiana puede ser utilizada para aumentar el rendimiento de crecimiento, la digestibilidad de los nutrientes, reducir la contaminación ambiental y disminuir el costo de alimentación de las aves, mejorando la sostenibilidad de la producción.

La tecnología de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) se ha utilizado tradicionalmente para medir fibra, proteína y niveles de humedad de las materias primas, pero la tecnología NIR ha permitido el análisis de otros parámetros tales como el fitato.

El nivel de fitato varía entre las diferentes materias primas, incluso dentro de una misma materia prima. Las variaciones del fitato de la dieta puede resultar en una disminución del rendimiento de los animales, impactando en la ganancia del productor. La comprensión de los niveles de fitato es de vital importancia ya que esto determina cuánta fitasa debe ser añadida al alimento.

La comprensión de la variabilidad de los niveles de fitato tanto en las materias primas como en los alimentos terminados permitirán a los nutricionistas tomar ventaja de las fitasas sin poner en riesgo pérdidas en el rendimiento debido a la deficiencia de P. Hacer análisis en forma regular con la tecnología NIR reduce el riesgo de pérdidas económicas y permite el óptimo rendimiento de los animales debido a la formulación precisa de las materias primas.

El costo del alimento representa aproximadamente el 70-80% de los costos de producción, el uso de NIR para analizar parámetros tales como fitato podría mejorar las raciones y la eficiencia de la alimentación. La industria avícola podría beneficiarse de la mejora de la rentabilidad a través de una mayor comprensión de la composición de las materias primas, mediante el uso de la tecnología de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR).

Tabla 23:

	P-fítico (g/100 g MS)	P-fítico (% del total de P)
Cereales		
Maíz	0,24	72
Sorgo	0,24	66
Cebada	0,27	64
Trigo	0,27	69
Arroz	0,27	77
Avena	0,29	67
Leguminosas		
Garbanzos	0,21	51
Lentejas	0,31	65
Oleaginosas		
Harina de soja	0,39	60
Harina de girasol	0,89	77
Otros		

Gluten meal de maíz	0,41	59
Aislado proteico de soja	0,48	60

Fósforo fítico contenido en diversas materias primas de uso habitual en avicultura. Tabla de elaboración propia del tesista.

Comentario [a1]: tabla

7. MICROELEMENTOS Y CALIDAD DE LA CÁSCARA

La mayoría de los estudios sobre los efectos nutricionales sobre la cáscara del huevo y la calidad ósea en las gallinas ponedoras se han centrado en los efectos de la dieta de Ca, P y vitamina D3. Sin embargo, se sabe que existen enzimas, como anhidrasa carbónica, relacionada con ciertos microelementos, y que son importantes en los procesos de mineralización.

Mabe et al. (2003) sugirieron que los oligoelementos como Zn, Mn y Cu, son cofactores de determinadas enzimas que podrían afectar las propiedades mecánicas de las cáscaras de huevo, influyendo en la formación de cristales de calcita y modificando la estructura de la cáscara de huevo. También informaron el efecto positivo en la resistencia a la cáscara del huevo en gallinas adultas (69 a 82 semanas de edad), con la suplementación de una dieta basal (32,6 mg/kg Zn) con 60 mg/kg de Zn, pero en gallinas jóvenes no observaron tal efecto. Sin embargo, dado que además del Zn se agregó una dosis de 60 mg/kg de Mn y 10 mg/kg de Cu, no es posible concluir si este efecto se debió únicamente a la suplementación con Zn.

En un ensayo realizado por Leach y Gross (1983) demostraron que las cáscaras de huevo de gallinas alimentadas con una dieta deficiente en Mn son más delgadas y muestran alteraciones en las conchas mamilares y un contenido reducido de hexosamina y ácido hexurónico en la capa de la matriz orgánica.

Sazzad et al. (1994) encontraron que el contenido de Mn en una dieta basal a base de maíz y soja tiene un contenido de Mn de 25 mg/kg, suficiente para un rendimiento óptimo en gallinas en postura. Sin embargo, la cáscara de huevo aumentó el espesor con el agregado de una suplementación de Mn hasta 105 mg/kg (25 mg / kg de la dieta basal y 80 mg/kg de MnO añadido), sin llegar a meseta o “plateau”. En un ensayo de Fassani et al. (2000), aumentando un suplemento de Mn (40-200 mg/kg) a la dieta para gallinas en el segundo ciclo de producción, el espesor de la cáscara de huevo mejoró linealmente y bajó la pérdida de huevos.

Resultados de un estudio reciente de Xiao et al. (2014) con gallinas Hy-Line Gray indicaron que la suplementación dietética de Mn (100 mg/kg) afecta positivamente calidad de la cáscara del huevo, es decir, resistencia a la fracturas, roturas y espesor, aumentando la síntesis de glicosaminoglicano y ácido urónico en las glándulas de la cáscara de huevo, como también se vio un mejoramiento en la ultraestructura de la cáscara.

En general, los datos experimentales muestran que el Mn en la dieta puede mejorar las propiedades mecánicas de la cáscara, mientras que los efectos sobre el peso de la cáscara o espesor son bastante inconsistentes. Los resultados de varios experimentos han demostrado que no sólo el nivel microelementos en la dieta de una gallina afectan la calidad de la cáscara del huevo, también lo hacen su forma (complejos inorgánicos vs inorgánicos).

Es importante destacar que la Unión Europea ha reducido las concentraciones máximas de los oligoelementos Zn y Mn en dietas de aves de corral a 150 mg/kg (Comisión Europea, 2003).

Gheisari et al. (2011) suplementó una dieta a base de maíz y soja con Zn, Mn y Cu como complejos de aminoácidos versus sulfatos, en una proporción de 40, 40 y 7 mg/kg, respectivamente. Informaron que el espesor de la cáscara era un 3,8% más alto en las gallinas alimentadas con la dieta orgánica.

Stefanello et al., 2014, hicieron una dieta con una suplementación creciente de Zn, Mn y Cu y observó una influencia positiva en la calidad de la cáscara del huevo, en lo referente a la resistencia a la rotura y espesor de la cáscara, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre las fuentes inorgánicas y orgánicas.

Ma et al. (2014) informaron que la suplementación de las dietas de gallinas en edad de producción avanzada con propionato de Cromo (600 µg/kg) mejoró la calidad de la cáscara del huevo, medida como espesor de cáscara.

Los resultados de un estudio de Attia et al. (2010) con gallinas reproductoras doble propósito, demostraron que la sustitución de una fuente orgánica de selenio (seleno metionina) por una fuente inorgánica (selenito sódico) no afectó la calidad de la cáscara del huevo, en lo que se refiere a porcentaje, grosor o peso de la cáscara por unidad de superficie.

7.1. PRE Y PROBIÓTICOS

Resultados de varios estudios recientes demostraron que los aditivos para alimentos balanceados para gallinas ponedoras, como los probióticos, prebióticos, como así también los ácidos orgánicos, pueden mejorar la calidad de la cáscara del huevo y esto podría atribuirse principalmente al aumento de la disponibilidad de Ca y otros minerales. Chen y Chen (2004) informaron que la suplementación en la dieta con un 1% de prebióticos fructanos aumentó significativamente el porcentaje de cáscara de huevo y la resistencia a la rotura, como así también los niveles de ceniza bruta, Ca y P en los huesos de la tibia.

Swiatkiewicz et al. 2010, encontró efectos positivos en la densidad y resistencia a la rotura de la cáscara de huevo, en gallinas alimentadas con una dieta que contenía inulina y oligofruktosa. Los mismos autores informaron que la inulina en la dieta afectó

positivamente la calidad de la cáscara en gallinas avanzadas en el ciclo de producción (50 semanas de edad) alimentadas con dietas que contenían altas concentraciones de DDGS).

Yildiz et al. (2006) no encontró efectos positivos de la inulina en la dieta sobre el peso, espesor y resistencia a la rotura de la cáscaras de huevo.

Cesari et al. (2014) evaluaron la influencia del prebiótico (desnatado de leche en polvo con un 54% de lactosa) añadido a una dieta que contenía *Lactobacillus acidophilus* y midieron el rendimiento y la calidad del huevo de un lote de gallinas en producción Hy-Line. Los resultados demostraron la influencia positiva de los prebióticos (3 o 4%) en la calidad de la cáscara del huevo, que podría deberse a un aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta en el intestino de las gallinas alimentadas con la combinación de bacterias probióticas y lactosa.

Abdelqader et al. (2013) evaluaron la influencia de la inclusión en la dieta de *Bacillus subtilis* ($2,3 \times 10^8$ cfu/g de probiótico) sobre el rendimiento y la calidad de la cáscara de gallinas ponedoras de lotes avanzados en edad (64 semanas), y encontraron un efecto positivo de los probióticos en la producción de huevos y en la calidad de la cáscara del huevo (peso y grosor de la cáscara). Posteriormente determinaron la eficacia de la inclusión en la dieta de *Bacillus subtilis* (probiótico) e inulina (prebiótico), en forma individual o combinada. Los resultados mostraron un efecto beneficioso en las dietas suplementadas con probiótico en un 0,10%, con inulina en un 0,10% y simbiótica en lo referente al rendimiento, la calidad de la cáscara y la retención del Ca en gallinas en edad avanzada de producción.

Las mejoras en el rendimiento y la calidad de la cáscara del huevo debido al uso de pre y probióticos, están directamente relacionados con la colonización del intestino con microflora benéfica, junto a un aumento en el área de absorción de las vellosidades intestinales y profundidad de las criptas. Los efectos positivos de los prebióticos y probióticos en los índices de calidad del huevo, probablemente están conectados por la estimulación de los minerales disponibles. Estos minerales presentan una mayor

solubilidad, debido a un aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta por las bacterias probióticas, gracias al aumento del suministro de sustrato por los prebióticos. A un aumento de la superficie de absorción gracias al efecto beneficioso de los productos de la fermentación bacteriana sobre la proliferación de enterocitos. A la degradación de fitatos por las enzimas bacterianas probióticas. Al aumento de la expresión de proteínas de unión al Ca y a una mejora general de la salud intestinal (Scholz-Ahrens et al., 2001).

7.2. ÁCIDOS ORGÁNICOS

Sengor et al., 2007, comprobó en un lote de gallinas reproductoras blancas de la línea Bovans en edad de producción avanzada, que la suplementación en la dieta con ácidos grasos de cadena corta (SCFA, 0,05%) mejoró la resistencia a la rotura de la cáscara del huevo y una disminución en el número de huevos deformes, rotos y sucios

Soltan (2008) informó que la inclusión en la dieta de gallinas ponedoras de una mezcla de ácidos grasos de cadena corta, ácido fórmico y sales de ácidos butírico, propiónico y láctico en un 0,078%, aumentó el espesor de la cáscara de las gallinas a las 70 semanas de edad y redujo el número de los huevos rotos, sin efecto sobre el peso de la cáscara de huevo. La mejoría en la calidad de la cáscara del huevo se relacionó con un aumento en la concentración de Ca en el suero, lo que podría atribuirse al efecto beneficioso de los ácidos orgánicos sobre la absorción de Ca.

Swiatkiewicz et al. (2010) observaron una influencia positiva con la inclusión de ácidos grasos de cadena media (MCFA), es decir, ácido caprico y caproico y, en menor grado, con la inclusión de ácidos grasos de cadena corta (SCFA), sobre la calidad de la cáscara (densidad y resistencia a la rotura) en gallinas de 46-70 semanas de edad. Los efectos positivos se deben al aumento de la disponibilidad de Ca y P, provocada por una disminución del pH en la parte superior del tracto intestinal y el efecto estimulante de los ácidos orgánicos sobre la altura de las vellosidades intestinales.

Por el contrario, Yesilbag y Colpan (2006), en un estudio con gallinas de la línea Lohmann, encontraron que los ácidos fórmico y propiónico incorporados en la dieta no tuvieron influencia sobre el grosor de la cáscara de huevo y la resistencia a la rotura.

7.3. ACEITES ESCENCIALES Y EXTRACTOS DE VEGETALES

Cabuk et al., 2006 estudiaron un lote de gallinas ponedoras de 54 a 74 semanas de edad y demostraron que el suplemento dietético con una mezcla de aceites esenciales (orégano, hoja de laurel, hoja de salvia, hojas de mirto, semillas de hinojo y aceite de cáscara de cítricos) redujo el número de huevos rotos o cascados en un 15,5%.

Kaya et al. (2013) informó un efecto benéfico de una combinación dietética de aceites esenciales (salvia, tomillo y extractos de menta 0,015 a 0,030%) sobre la dureza y el peso de la cáscara.

Lokaewmanee et al. (2014) demostró que extractos de plantas dietéticas (trébol rojo y ajo, 0,10%) mejora la calidad de la cáscara del huevo. Estos efectos positivos podrían atribuirse probablemente a mejoras observadas en los parámetros histológicos del intestino delgado.

7.4. ÁCIDO ASCÓRBICO O VITAMINA C

El ácido L-ascórbico (AA), también denominado Vitamina C, tiene un importante papel metabólico como resultado de sus propiedades reductoras como carrier de electrones. Puede ceder hasta 2 electrones y participa en vías redox e hidroxilación, actuando como un cofactor para las citoquinas dependientes de la citocromo P450-hidroxilasas en algunas reacciones.

El AA no es un nutriente esencial para las aves, porque poseen la enzima gulonolactona oxidasa, que forma parte de la vía biosintética. La síntesis endógena puede no ser suficiente

para satisfacer las necesidades totales de las aves en todo momento o los requerimientos de AA pueden verse aumentados bajo ciertas circunstancias, por ejemplo, en condiciones de estrés.

El estrés en las aves produce una serie de cambios bioquímicos y se obtienen respuestas adaptativas o protectoras, dirigidas a prevenir o minimizar los efectos potencialmente perjudiciales que el factor de estrés impone al animal.

La corticosterona (hormona esteroide glucocorticoide) es la principal asociada al estrés en las aves. Su producción es el resultado final de una cadena de eventos que produce el hipotálamo liberando que estimula la liberación de corticosterona de la corteza suprarrenal, aumentando la concentración de corticosterona en plasma generando inmunosupresión.

Los corticosteroides reducen los nutrientes y energía para montar respuestas inmunes, y concentran los recursos para luchar o montar otras respuestas frente al estrés. El estrés por calor disminuye el peso de la bolsa de Fabricio y el bazo en relación con el peso corporal (Pardue et al., 1985), esto podría resultar de la acción de los corticosteroides.

Sin embargo, el deterioro de la función inmunológica en el estrés térmico también puede atribuirse a los efectos de la peroxidación lipídica en las membranas celulares.

El AA está estrechamente asociado con la producción de corticosterona. Se encuentra en alta concentración en la glándula suprarrenal e inhibe la esteroidogénesis. El estrés induce el agotamiento del AA en la glándula suprarrenal y esto va asociado a la liberación de corticosterona. El mantenimiento de altas concentraciones de AA mediante la suplementación en la dieta, ha demostrado que limita el aumento de la circulación plasmática de corticosterona en pollos bajo estrés. En ausencia de estrés, la suplementación con AA tiene poco efecto sobre las concentraciones circulantes de corticosterona (Pardue et al., 1985).

En el estrés por calor, el aumento de la temperatura corporal dará como resultado daño tisular y liberación de componentes intracelulares en la circulación. Gran parte del daño en los tejidos durante el estrés por calor, se debe al daño en las membranas celulares, por la peroxidación de los lípidos. La creatinquinasa (CK) es una enzima intracelular, predominante en el tejido muscular, cuya concentración plasmática aumenta notablemente en estrés por calor agudo. La vitamina E es un nutriente importante para mantener las habilidades antioxidantes de las membranas, pero también el AA está involucrado como resultado de sus propiedades antioxidantes y su relación con la vitamina E.

En condiciones de estrés por calor, se ha demostrado que la suplementación dietética con AA mejora las respuestas inmunológicas. Incluso en ausencia de estrés por calor, la suplementación dietética con AA puede beneficiar al sistema inmune. Se puede sugerir que el AA disminuye la carga de calor de las aves o aumenta la pérdida de calor o mejora su capacidad para tolerarlo.

El AA también puede influir en las vías del metabolismo energético, a través de la utilización de las reservas de energía durante los períodos de consumo reducido de alimento, por un aumento de la síntesis de carnitina (transporte de ácidos grasos a la mitocondria) en los hepatocitos, que induce la partición de ácidos grasos hacia la beta-oxidación. McKee et al. (1997) realizaron pruebas donde la suplementación de 150 mg/kg de AA disminuyó el cociente respiratorio de los pollos sometidos a estrés térmico, indicativo de un aumento en la oxidación de ácidos grasos.

Un mecanismo alternativo por el cual el AA puede influir en el metabolismo energético es a través de un efecto sobre las enzimas tiroideas.

En lo referente a las respuestas productivas en gallinas ponedoras suplementadas con AA, ha habido una gran variabilidad en los resultados reportados. Los resultados de dietas suplementadas con AA, donde se espera encontrar un aumento de producción del número de huevos, mayor gravedad específica de la cáscara, aumento del grosor de la cáscara, mayor resistencia a la ruptura, aumentos de las concentración plasmática de Ca,

disminución en la mortalidad del lote, fueron muy contradictorios. Es importante destacar que la exposición previa al estrés térmico y la gran variabilidad de resultados obtenidos en los ensayos, se debe al pre acondicionamiento al calor, ya que puede aumentar la tolerancia del ave a condiciones ambientales calientes.

Todos los experimentos han incluido una amplia gama de condiciones medioambientales y nutricionales a diferentes dosis de AA. Sin embargo, parece evidente que las respuestas favorables en las gallinas ponedoras a la suplementación con AA, han ocurrido con mayor frecuencia en aquellas aves evaluadas bajo condiciones de estrés.

8. TRANSTORNOS NUTRICIONALES Y PATOLOGÍAS QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LA CÁSCARA

8.1. EXCESO DE CALCIO EN LA DIETA

El exceso de consumo de Ca tiene un efecto adverso sobre el consumo de alimento y la producción. Generalmente los efectos adversos del exceso de Ca en la dieta se debe a lo siguiente: altos niveles de otros minerales (ejemplo, magnesio) que se encuentran en la fuente CaCO_3 utilizado. Empleo de CaCO_3 en forma de harina en lugar de la forma granular gruesa, esto reduce la palatabilidad y podría afectar negativamente el consumo de alimento.

Los resultados Kumar et al, 1963, Harms y Waldroup, 1971 indicaron que la ingesta de Ca de hasta 8,93 y 9,48 g/ave/día, no han tenido ningún efecto adverso sobre el consumo de alimento, simplemente pasa a través del tracto digestivo sin absorberse.

Shane (1969) y colaboradores alimentaron pollas Leghom con dietas que contenían 3.0% de Ca y 0.4% de P, de las 8 a las 20 semanas de edad. Observaron nefrosis y gota visceral a las 16 semanas de edad.

Wideman y colaboradores 1985 dieron a las pollas de reemplazo dietas que contenían concentraciones en exceso (3.25%) o adecuadas (1.0%) de Ca en combinaciones con P disponible de manera moderada (0.6%) o baja (0.4%) desde las 7 semanas hasta las 18 semanas de edad. Todas las aves recibieron una dieta de postura comercial durante el periodo de postura. Las pollas alimentadas con dietas de 3.25% de Ca desarrollaron una alta incidencia de urolitiasis a las 18 semanas, que persistió o aumentó en el periodo de postura hasta las 51 semanas de edad. Las pollas alimentadas con bajas concentraciones de P en la dieta durante la etapa de crecimiento exacerbaron el efecto de exceso de Ca.

8.2. DEFICIENCIA DE CALCIO Y FÓSFORO EN LA DIETA

Las deficiencias de Ca y P en la dieta de pollos de engorde jóvenes ocasionan raquitismo, el cual difiere en histopatología y también es distinto del raquitismo por deficiencia de vitamina D.

Los pollos alimentados desde el nacimiento por dos semanas con una dieta deficiente en Ca se observa en las tibias, una ampliación de la zona prehipertrófica proliferativa del cartílago epifisario y contornos irregulares en la unión entre las zonas de cartílago proliferativo e hipertrófico. Se ven también columnas de cartílago irregular y los vasos epifisarios elongados. A la cuarta semana, la placa de crecimiento epifisario se ampliado, y en algunos casos, se extiende como un tapón cartilaginoso a la metáfisis.

Histológicamente, las zonas proliferativas e hipertróficas son irregulares y muchas veces contienen áreas de células no viables. La zona hipertrofiada se amplía de manera notable en algunos pollos a la cuarta semana. Los vasos sanguíneos metafisarios invaden a lo largo de la región lateral, pero no la región apical, de los tapones cartilaginosos; las columnas de cartílago de la metáfisis se encuentran engrosadas e irregulares.

Los investigadores observaron que la patología es similar a la de la condrodisplasia tibial. De acuerdo con Long y colaboradores (1984), la deficiencia de P (0.2% disponible en la dieta) y el exceso de Ca (2.24% de Ca y 0.45% de P disponible) resultan en anormalidades similares en las tibias. Se observaron varias anormalidades histológicas, pero lo más notable fue un marcado alargamiento de las columnas de cartílago epifisario hipertrofiado degenerado y algunos pollos no pudieron ponerse de pie hacia la cuarta semana, estuvieron en una postura con las patas "abiertas". Muchas veces se presentan fracturas cerradas y arqueado o rotación de tibiotarsos.

Los pollos con dietas deficientes en P también aumentan sus frecuencias respiratorias y presentan policitemia (aumento de los glóbulos rojos). Disminución del CO₂ y el O₂ sanguíneos, probablemente por la poca fuerza de las costillas e invaginación, lo que interfiere con los movimientos respiratorios costales de la caja torácica. Las aves mueren por insuficiencia ventricular derecha, a menudo acompañada de ascitis.

En gallinas de postura, la deficiencia de Ca resulta en una menor producción de huevo y huevos de cáscara más delgada, así como también tendencia a disminuir el contenido de Ca de los huesos, primero por remoción completa del hueso medular, seguida por una remoción gradual de hueso cortical. Por último, los huesos se hacen tan delgados que pueden fracturarse de manera espontánea, en especial en vértebras, tibias y fémures. Este trastorno puede relacionarse con un síndrome denominado "fatiga de la ponedora en jaula". En tanto una deficiencia marginal de Ca a menudo se encuentra como un agente activador de este síndrome, éste parece no deberse a una simple deficiencia de Ca, sino que también incluye otros factores etiológicos aún no identificados.

8.3. OSTEOPOROSIS O FATIGA DE JAULA

La osteoporosis de las ponedoras o fatiga de jaula, es la enfermedad ósea más importante en gallinas utilizados para la producción de huevo. La principal característica de este padecimiento es la deficiente estructura ósea de las aves en producción en jaula.

Antiguamente, había una pérdida de aves mayor a 3% por mes en lotes muy afectadas, en la actualidad las pérdidas son mucho menores pero la estructura ósea en las aves de ocasiona considerables pérdidas económicas por fracturas óseas cuando las aves son procesadas en los frigoríficos.

Signos clinicos y patologia

Al principio las aves se encuentran paralizadas en sus jaulas. Muchas veces están alertas, pero más tarde comienzan a deprimirse y mueren por deshidratación; algunas gallinas mueren de manera aguda. La parálisis es lo que le da a la patología el término de fatiga. Las aves paralizadas, si se retiran de sus jaulas y se les permite agua y alimento, a menudo se recuperan en 4 a 7 días.

En la necropsia, las aves paralizadas o muertas presentan huesos que se rompen con facilidad. Puede haber fracturas en patas y huesos de las alas y en la columna vertebral. A menudo, el esternón se encuentra deformado y hay un plegamiento característico de las costillas en la unión con el esternón y componentes vertebrales.

La glándula paratiroides está crecida. En muchas aves hay ovarios en regresión y deshidratación, mientras que en algunas de las muertas se observa un huevo en el oviducto y mueren de manera aguda.

Histológicamente, las cortezas de los huesos son delgadas, con grandes espacios de absorción. Se reduce el hueso medular y en gran parte consiste de osteoide (fibras colágenas y una matriz con glucoproteínas y proteoglucanos). La deformación de las costillas se debe a pequeñas fracturas, y muchas veces, a daño en la columna vertebral que se relaciona con las fracturas a nivel torácico.

Patogénesis, etiologia y control

La parálisis en algunas aves puede explicarse por fracturas de la médula espinal, pero no siempre existe este problema. Es posible que la parálisis en algunas aves y la muerte aguda en otras, se deba a hipocalcemia, pero esto no se ha probado. Se originan cambios esqueléticos similares, así como también síndromes clínicos producidos de manera experimental con dietas bajas en P y en Ca y deficientes en vitamina D. Las dietas bajas en Ca y deficientes en vitamina D, ocasionaron una grave disminución en la producción de huevo, mientras que la dieta baja en P sólo originan una disminución ligera. La gallina ponedora moderna tiene un metabolismo de Ca muy activo y la elevada producción de huevo puede resultar en una osteoporosis fisiológica. Las deficiencias nutricionales marginales pueden ocasionar osteoporosis grave y signos clínicos. La formación de hueso cortical fuerte y adecuado hueso medular, antes de la producción de huevo, puede ayudar en la reducción de la fatiga de jaula. El aumento de la cantidad de Ca en la ración en la etapa de prepostura, puede ser necesaria, pero si se aumenta el Ca demasiado tiempo antes de la producción de huevo, puede deprimir a la glándula paratiroides.

El padecimiento clínico se restringe a animales que viven en jaulas. Se ha demostrado que el confinamiento de las gallinas de postura en las jaulas reduce la fuerza de los huesos de manera significativa, y aumenta la facilidad con la cual se rompen los huesos. Las perchas en las jaulas disminuye la gravedad de la osteoporosis, no obstante, los efectos benéficos de las perchas son relativamente menores.

8.4. DEFICIENCIA DE VITAMINA D

En gallinas de postura en jaula, los signos de deficiencia comienzan a desarrollarse a las 2 semanas después de que se les priva de vitamina D. El primer signo es un aumento notable en el número de huevos de cáscara delgada y blanda, seguido poco después por una marcada disminución en la producción de huevos.

Los indicadores bioquímicos incluyen una rápida disminución en las concentraciones sanguíneas de 25-dihidroxicolecalciferol y 1,25-dihidroxicolecalciferol, seguida poco

después por una caída en la concentración de Ca en sangre. El notable aumento en la fosfatasa sérica es el primer indicador de una condición raquítica inicial. Luego de varios ciclos de menor producción de huevo y menor dureza de la cáscara, pueden seguir periodos relativamente normales de producción de huevo y calidad de cáscara.

En las gallinas puede haber pérdida temporal del uso de las patas, con recuperación después de la postura de un huevo que, por lo general, no tiene cáscara.

Por lo común, el esternón se dobla y las costillas pierden su rigidez normal, lo que provoca una típica curva hacia el interior de las costillas a lo largo de los lados del tórax. Se forman nudos bien definidos sobre la superficie interna de las costillas en la unión costocondral (rosario raquítico). Estos cambios reducen el tamaño del tórax con la consecuente presión en órganos vitales.

El déficit de vitamina D produce problemas de la calidad de la cáscara del huevo y la incubabilidad se reduce de manera sobresaliente. La 25-hidroxicolecalciferol, 1 alfa-hidroxicolecalciferol y 1,25-dihidroxicolecalciferol apoyan la adecuada producción de huevo y la dureza del cascarón, pero sólo el 25-hidroxicolecalciferol (existe la forma sintética) es eficaz para mejorar la incubabilidad por tener un mejor transporte al huevo.

Durante los periodos de extrema debilidad en las extremidades, las gallinas adoptan una postura característica, que se describe como "agachado tipo pingüino". Más tarde, el pico, las garras y el esternón se tornan muy suaves y flexibles.

El primer signo de deficiencia de vitamina D en pollos, además de retraso del crecimiento, es el raquitismo, caracterizado por una grave debilidad de los huesos. Entre las 2 y 3 semanas de edad, los picos y garras se reblandecen y flexionan, y las aves caminan con evidente esfuerzo y después de dar unos pasos irregulares se sientan sobre sus tarsos, en los cuales descansan mientras se esfuerzan de un lado a otro. También se observa una alteración en el emplume.

En aves reproductoras hembra que reciben vitamina D en pocas cantidades, los cambios característicos observados en la necropsia se confinan a los huesos y la paratiroides, éstas se agrandan por hipertrofia e hiperplasia.

Se puede observar la poca calcificación en la epífisis de la tibia o fémur, con aumento en la proporción de osteoide. Hay más porosidad de hueso cortical, lo que conduce a veces a fracturas, debido a incrementos de la resorción de hueso en los conductos de Havers. Las fracturas pueden presentarse en cualquier hueso.

Una sola dosis masiva de 15 000 UI de vitamina D₃, cura el raquitismo de los pollos con más rapidez que cuando se agregan concentraciones generosas de la vitamina al alimento. Esta única dosis oral protege a pollitas durante cinco semanas. Cuando se administran dosis masivas a animales raquícticos, resulta necesario considerar que puede ser perjudicial el exceso de vitamina D. La dosis debe ser proporcional al grado de deficiencia, y no agregar cantidades excesivas de vitamina D en el alimento.

8.5. HIPERVITAMINOSIS D

Muy altas concentraciones de vitamina D en el alimento (3 a 4 millones UI/kg o más), ocasiona daño renal por la calcificación distrófica de los túbulos renales. La calcificación se puede observar con menos frecuencia en la aorta y otras arterias. Se dice que un moderado exceso de vitamina D aumenta la incidencia de granulosis del cascarón, debido al exceso de depósitos calcáreos localizados sobre y dentro del cascarón.

8.6. BRONQUITIS INFECCIOSA

La bronquitis infecciosa (BI) es una enfermedad respiratoria viral aguda, altamente contagiosa de los pollos. Es causado por un virus miembro de los Coronaviridae, cuyos serotipos Connecticut y Massachussets son los más destacados. Entra por vía inhalatoria, y

es de rápida transmisión (48hs), afecta con mayor intensidad a los pollitos bebé siendo el adulto más resistente.

En el pollito bebé se caracteriza por estertores traqueales, tos, boqueos. Puede identificarse un exudado catarral en la traquea y formación de un tapón mucoso, generando muerte por asfixia. Puede haber infección bacteriana secundaria que genera aerosaculitis. Cuando el pollito bebé se enferma por la cepa nefropática, los riñones están hinchados y pálidos (aspecto cerebroide) y los uréteres distendidos por la acumulación de uratos. Se ven pollos con plumas desordenadas, con signos de depresión, aumento en el consumo de agua y heces húmedas. Los pollos parecen encontrarse deprimidos, se pueden observar agrupados bajo la fuente de calor, y la ingestión de alimento y aumento de peso están reducidos de manera significativa.

Cuando el virus afecta a una ponedora adulta, por lo general, hay una caída en la producción y en la calidad del huevo, además de signos respiratorios. La intensidad del decremento en la producción puede variar con el periodo de postura, y con la cepa del virus causal. Los cambios en el huevo varían desde una alteración en el pigmento de la cáscara, sin descenso en la producción a descensos de producción de 10 a 50%. Pueden pasar de 6 a 8 semanas antes de que la producción regrese al valor previo a la infección, pero en la mayor parte de los casos esto casi nunca se logra. Además de la disminución en la producción, aumenta el número de huevos no aceptables para incubación, se reduce la fertilidad, y se producen huevos con cáscaras blandas, irregulares o ásperas. La calidad interna de los huevos es inferior. La clara puede ser delgada y acuosa sin demarcación definida entre el albumen espeso y fino del huevo fresco normal.

Las pérdidas por ineficiencias en la producción suelen ser de mayor preocupación que las pérdidas por mortalidad. Por su naturaleza altamente transmisible y la existencia de múltiples serotipos de virus de IB.

El diagnóstico de IB se basa en la historia clínica, lesiones, seroconversión o aumento de los títulos de anticuerpos hacia IB, detección de antígenos a IB.

La prevención es mediante vacunación, en plantas de incubación de parrilleros, ponedoras y reproductoras.

8.7. SÍNDROME DE CAÍDA DE POSTURA

El agente causal es un Adenovirus, los brotes que se producen se pueden dividir en varios tipos diferentes.

1) Se afectan las reproductoras quienes transmiten en forma vertical el virus a los embriones. En muchos casos, los pollitos infectados in ovo no excretan virus, ni desarrollan anticuerpos hasta que la parvada ha alcanzado más de 50% de la producción de huevo. En esta etapa el virus se desenmascara y excreta, produciéndose una propagación viral en apariencia rápida, causando múltiples focos de infección. El virus prolifera en la glándula del útero y los huevos puestos tienen cáscaras normales como anormales y contienen virus, tanto en su exterior como en el interior.

2) Propagación directa entre aves, cuando se transporta a las aves en camiones limpiados de manera inadecuada, o cuando se ha llevado alimento sobrante de un sitio a otro. También hay evidencia de que las agujas o cuchillas empleadas para la vacunación o el despique de aves virémicas, si no se esterilizan de modo apropiado pueden transmitir la infección.

3) La propagación lateral es lenta e intermitente, y requiere hasta de 11 semanas para llevarse a cabo a través de jaulas. La propagación entre aves a piso es más rápida.

4) La propagación hacia las gallinas a partir de patos tanto domésticos como silvestres, gansos y otras aves silvestres por medio de agua de bebida contaminada con heces. Estos casos tienden a ser esporádicos, pero siempre hay riesgo de que alguna parvada endémica se vuelva el foco de una situación endémica

Después de la infección oral de gallinas adultas, hay una replicación viral limitada en la mucosa nasal y viremia. A los 3 a 4 días posteriores a la infección se produce replicación viral en el tejido linfóide de todo el cuerpo, en especial en el bazo y en el timo. Además, se afecta de manera consistente el infundíbulo del oviducto. A los 7 a 20 días después de la infección hay una replicación viral masiva en la glándula del útero, y en un grado mucho

menor en otras partes del oviducto. Esta replicación se relaciona con una notable respuesta inflamatoria en la glándula del útero y la producción de huevos con cascarones anormales.

A diferencia de los adenovirus convencionales, el SBP no se replica en la mucosa intestinal y la presencia de virus en las heces se debe probablemente a contaminación con el exudado del oviducto.

Los primeros signos aparecen a los 7 a 9 días pudiendo llegar hasta los 17 días post infección. El primer signo es la pérdida de color en los huevos pigmentados. A esto le sigue una rápida producción de huevos con cáscaras delgadas, blandas o sin cáscara. Los huevos con cáscara delgada muchas veces tienen una textura rugosa, como de papel de lija o un arrugamiento granuloso en un extremo de la cáscara. Si los huevos claramente afectados se descartan, no hay defecto en la fertilidad ni en los nacimientos, ni efecto a largo plazo en la calidad del huevo. Si las aves son infectadas de modo tardío en la producción, la muda forzada de la parvada restaurará la producción de huevo a lo normal. El descenso en la producción puede ser muy rápido o extenderse durante semanas. Los brotes duran de ordinario de 4 a 10 semanas, y la producción de huevo se puede reducir en hasta 40%; no obstante, de ordinario existe una compensación posterior en la postura, de tal manera que la pérdida total suele ser de 10 a 16 huevos por ave. Si la enfermedad se debe a reactivación de virus latente, el descenso suele darse cuando la producción se encuentra entre 50% y el pico de postura. Puede haber también una disminución en el consumo de alimento y retardo en el crecimiento.

La edad de la infección puede ser importante; las aves infectadas en el primer día de edad ponen huevos de aspecto normal excepto por el deterioro en la calidad de la clara y el menor tamaño. Si algunas aves tienen anticuerpos adquiridos antes de que se desenmascare el virus latente, se aprecia un síndrome clínico en apariencia distinto, no se alcanza la producción esperada de huevo, y puede demorarse el inicio de la postura. Las aves con anticuerpos hacen más lenta la propagación del virus. Aunque se han descrito inapetencia y torpeza en algunas parvadas afectadas, no son hallazgos consistentes. La diarrea transitoria

descrita por algunos autores se debe probablemente al exudado del oviducto. El virus del SBP no provoca enfermedad clínica en pollos en crecimiento en el campo.

El diagnóstico es por aislamiento e identificación del virus. El examen directo de lisado celular en el microscopio electrónico también proporciona una respuesta rápida y positiva. El ELISA se ha empleado para detectar anticuerpos de grupo, y es una técnica barata y sensible.

La prevención es mediante vacunación con vacuna inactivada por vía subcutánea hacia el final de la recría.

8.8. ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

Es una enfermedad viral cuyo agente etiológico es un Paramyxoviridae, virus RNA de cadena sencilla no segmentada y de sentido negativo. La enfermedad de Newcastle puede inducir una gran variedad en la gravedad de la enfermedad. Para simplificar el problema, Beard y Hanson resumieron la enfermedad en diversos basada en los signos clínicos:

- 1) Infección aguda letal en pollos de todas las edades; muchas veces hay lesiones hemorrágicas del aparato digestivo; a esta forma se le llama enfermedad de Newcastle velógena viscerotrópica (ENVV).
- 2) Infección con frecuencia letal en pollos de todas las edades; con signos respiratorios y neurológicos, se denomina velógena neurotrópica (ENVN)
- 3) Infección menos patógena que la ENVN, en el cual la mortalidad, por lo general, sólo se observa en aves jóvenes. Los virus que ocasionan este tipo de infección son del patotipo, mesógeno y pueden utilizarse como vacunas secundarias vivas;
- 4) Representada por infecciones benignas o inaparentes originadas por virus del patotipo lentógeno, que por lo general, se emplean como vacunas vivas;
- 5) La forma entérica asintomática que son principalmente infecciones intestinales con virus lentógenos que no provocan enfermedad evidente.

Las formas muy virulentas de la enfermedad puede presentarse de manera repentina, con alta mortalidad en ausencia de otros signos clínicos. Muchas veces se observa diarrea verde en aves que no mueren al principio de la infección, y antes de morir, pueden padecer temblores musculares, torticollis, parálisis de patas, alas y opistótonos. La mortalidad muchas veces alcanza 100% en parvadas de pollos por completo susceptibles. La forma velogénica neurotrópica de la enfermedad en pollos se marca por el inicio repentino de un problema respiratorio grave, seguido en 1 a 2 días después por signos neurológicos. La producción de huevo disminuye de manera sobresaliente, pudiendo haber diarrea. La morbilidad puede llegar a 100%. La mortalidad, por lo común, es más baja, aunque se registra hasta 50% en aves adultas y 90% en aves jóvenes. Las cepas mesógenas del virus de la EN, por lo general, ocasionan problemas respiratorios en infecciones de campo. En aves adultas, hay notable caída de la producción de huevo que puede durar varias semanas. La mortalidad en las aves, en general, es baja, excepto en aves muy jóvenes y susceptibles, pero pueden verse afectadas de manera considerable. Los virus lentógenos, por lo general, no provocan enfermedad en adultos

El aparato reproductor de la hembra presenta cambios histopatológicos muy variables. El mayor daño funcional se presentaba en el útero o en la porción formadora de la cáscara del oviducto. Los cambios en los órganos reproductores femeninos incluyen atresia de folículo con infiltración de células inflamatorias y formación de agregados linfoides. Se observan agregados similares en los oviductos. Puede haber un cambio de coloración en los huevos pigmentados. La prevención es mediante vacunación.

9. CONCLUSIÓN

El lento progreso hacia la solución de un problema de larga data como es la calidad de la cáscara del huevo proviene en parte del conocimiento incompleto de los cambios fundamentales que suceden en el oviducto durante la formación de la cáscara y en otros órganos vitales tales como riñón, pulmón, hueso y intestino.

Las gallinas ponedoras presentan un mecanismo complejo para mantener la homeostasis en diversas condiciones nutricionales para una adecuada distribución del Ca disponible en para los diversos procesos metabólicos. El Ca se almacena casi completamente como cristales de hidroxiapatita de fosfato de calcio y la dinámica del Ca está estrechamente relacionado con la del P. Un inadecuado suministro de Ca o P puede conducir a una retirada excesiva del fosfato de calcio de los huesos medulares y volver débiles estos huesos. Una fuente diurna óptima de Ca suministrada a las gallinas para satisfacer los requerimientos en los diferentes momentos de la oviposición ayudará a reducir la excreción de P en la materia fecal.

La vitamina D (colecalfiferol) es uno de los factores dietéticos más importantes responsables del crecimiento normal, la producción de huevo, la calidad de la cáscara y reproducción en aves. A diferencia de otras vitaminas, el 7-deshidrocolesterol en la piel se convierte en vitamina D, en presencia de radiación ultravioleta. En la industria avícola moderna, donde las aves se crían en la mayoría de los casos en interiores, la esencialidad de la vitamina D es importante para la rentabilidad de la producción.

El colecalfiferol se somete a dos hidroxilaciones secuenciales; la primera en el hígado para formar 25 hidroxivitamina D₃ y la segunda en el riñón para formar el metabolito activo 1,25 dihidroxivitamina D₃. Este último metabolito es una hormona esteroide que desempeña un papel importante en la movilización mineral ósea y en la absorción intestinal de calcio y fósforo, acomodando el aumento de la demanda de calcio y manteniendo su homeostasis a través del sistema endocrino de la vitamina D.

El requerimiento de gallina ponedora de 500 UI de vitamina D / kg de alimento, sin embargo, la evidencia sugiere que la 25 hidroxivitamina D₃ son de 2 a 2,5 veces más activos que la vitamina D₃ para la producción normal de huevo y la calidad de la cáscara. El metabolito de 1,25 dihidroxivitamina D₃ es aún más activo, tiene una actividad antiraquítica 10 veces mayor que la de la vitamina D₃. Sin embargo, la alimentación de gallinas ponedoras con 1,25 dihidroxivitamina D₃, como única fuente de vitamina D produce huevos con una alta de incidencia de mortalidad embrionaria. Aparentemente la 1,25

dihidroxitamina D₃ no se transfiere o se almacena en la yema o la membrana vitelina puede carecer de receptores específicos 1,25 dihidroxivitamina D₃.

El fitato de fósforo constituye entre el 60 al 80% del fósforo total en las semillas de cereales, leguminosas de grano y plantas oleaginosas. Dado que estos ingredientes están presentes en la dieta de las ponedoras, el fitato asume una importancia nutricional considerable. La utilización del fósforo de fitato en las aves varía de 0 a más del 50% dependiendo de la fuente de fitato, la edad de las aves y los niveles de Calcio y vitamina D₃ de la dieta. Debido a su fuerte potencial quelante, el ácido fítico y sus derivados pueden unirse a minerales esenciales (calcio, zinc y cobre), haciéndolos no disponibles o mal disponibles para absorción intestinal. El ácido fítico forma complejos con proteínas que tienen más resistencia a la digestión por enzimas proteolíticas, reduciendo la utilización de proteínas de la dieta.

La fitasa (endógena o exógena) tiene la capacidad de contrarrestar los efectos anti-nutricionales del fitato por desfosforilación escalonada del fitato a inositol y fósforo inorgánico.

El contenido de fitasa intestinal es muy bajo en aves jóvenes, pero aumenta con la edad. Añadiendo una fitasa microbiana a la dieta se mejora la tasa de crecimiento, la retención de fósforo, calcio, zinc y cobre. También puede aumentar la energía metabolizable aparente y la digestibilidad ileal de proteínas y aminoácidos. Esta mayor retención de nutrientes en el ave reduce la contaminación ambiental. Por lo tanto, la fitasa microbiana suplementaria se puede utilizar para aumentar la tasa de crecimiento, la digestibilidad de los nutrientes, reducir la contaminación y el costo de alimentación de las aves.

Hay una gran cantidad de datos que demuestran una relación íntima entre el equilibrio ácido-base de la sangre y la formación de cáscara de huevo. Sin embargo, no existe una evidencia de que la calidad de la cáscara puede mejorarse mediante la manipulación de los electrolitos de la dieta. Parte de la duda se debe a los resultados contradictorios obtenidos

por diferentes investigadores. Las dificultades de interpretación surgen cuando se entran en juego influencias como la edad y el estado sanitario del loe, programas de iluminación, calidad del agua, como se hizo el muestreo y análisis, el grado de estrés por calor y la falta de control sobre otros ingredientes. La misma dificultad de medición e interpretación surge cuando se adicionan en la dieta microelementos (orgánicos e inorgánicos) y aditivos (pre y probióticos, aceites esenciales, ácidos orgánicos y extractos vegetales).

El lento progreso hacia la solución de los problemas de calidad de cáscara tiene larga data y surge en parte, del conocimiento incompleto de los cambios fundamentales en el oviducto durante la formación de la cáscara y en otros órganos vitales como el riñón, pulmón, hueso e intestino, que también se involucran en este proceso.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. ABDELQADER, A., AL-FATAFTAH, A.R. and DAS, G. (2013a) Effects of dietary *Bacillus subtilis* and inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology and microflora composition of laying hens in the late phase of production. *Animal Feed Science and Technology* 179: 103-111.
2. Ahmad, M.M., Moreng, R.E. and Muller, H.D. (1967) Breed responses in body temperature to elevated environmental temperature and ascorbic acid. *Poultry Science* 46: 6.
3. Al-Batshan, H.A., Scheideler, S.E., Black, B.L., Garlich, J.D. and Anderson, K.E. (1994) Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poultry Science* 73, 1590-1596.
4. Ameenuddin, S., Sunde, M. L., & Cook, M. E. (1985). Essentiality of vitamin D 3 and its metabolites in poultry nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal*, 41(01), 52-63.
5. AMEENUDDIN, S., SUNDE, M. L., DE LUCA, H. F., IKEKAWA, N. and KOBAYASHI, Y. (1982). Vitamin D: 24-hydroxylation of 25 hydroxy vitamin D, it is required for embryonic development in chick? *Science* 217: 451-452.
6. Atlas of chick development (Third Edition). Ruth Bellairs and Mark Osmond Department of Cell and Developmental Biology, University College London, UK.
7. Attia, M. EL-S. (1976) Effect of different levels of vitamin C on body temperature of White Russian birds during heat stress. *Egyptian Veterinary Medical Journal* 26: 65.
8. ATTIA, Y.A., ABDALAH, A.A., ZEWEIL, H.S., BOVERA, F., EL-DIN, A.T. and ARAFT, M.A. (2010) Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. *Czech Journal of Animal Science* 55: 505-519.
9. Bar, A. (2008) Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying laying birds. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 151, 477-490.
10. Bar, A. (2009) Calcium transport in strongly calcifying laying birds: mechanisms and regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 152, 447-469.
11. Bebout, D. E., & Hempleman, S. C. (1994). Calcium deficient diet, acetazolamide and gas exchange characteristics of avian eggshells. *Respiration physiology*, 95(1), 11-20.
12. BRITTOK, W. H. and ZUMBADO, M. E. (1984). Dietary anion, and egg shell quality. *Proceedings 1984 Georgia Nutrition Conference for the Feed Industry, USA*, pp. 11-82.

13. CABUK, M., BOZKURT, M., ALCICEK, A., CATLI, A.U. and BASER, K.H.C. (2006) Effect of a dietary essential oil mixture on performance of laying hens in the summer season. *South African Journal of Animal Science* 36: 215-221.
14. Calnek. Exceso de suplementacion de Ca y P.
15. CAPIA (Cámara Argentina de Productores Avícola). Estadísticas anuales 2015.
16. CESARI, V., MANGIAGIALLI, M.G., GIARDINI, A., GALIMBERTI, B., CARTER, S., GALLAZZI, D. and TOSCHI, I. (2014) Egg quality and productive performance of laying hens fed different levels of skimmed milk powder added to a diet containing *Lactobacillus acidophilus*. *Poultry Science* 93: 1197-1201.
17. Chah, C.C. and Moran, E.T. (1985) Egg characteristics of high performance hens at the end of lay when given cafeteria access to energy, protein and calcium. *Poultry Science* 64, 1696-1712.
18. CHEN, Y.C. and CHEN, T.C. (2004) Mineral utilization in layers as influenced by dietary oligofructose and inulin. *International Journal Poultry Science* 3: 442-445.
19. Clunies, M., Parks, D. and Leeson, S. (1992) Calcium and phosphorus metabolism and eggshell formation of hens fed different amounts of calcium. *Poultry Science* 71, 482-489.
20. Complejo Avícola, Plan Estratégico Agroalimentario y Agroindustrial, PEA 2020, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina.
21. Cowieson, A. J., Wilcock, P., & Bedford, M. R. (2011). Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*,67(02), 225-236.
22. de Blas Beorlegui, C., Mateos, G. G., & Rebollar, P. G. (2003). Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
23. Dr. Guillermo Mattioli. Hipocuprosis Bovina, Laboratorio de Nutrición Mineral, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
24. DRAPER, H. H , SIE. TEN-LIN and BERGAN. J. G. (1972). Osteoporosis in aging rates induced by high phosphorus diets. *Journal of Nutrition* 102: 1133-1142.
25. ENGELEN, A.J., VAN DER HEEFT, E.C., RANDSDORP, P.H.G. and SMITH, E.L.C. (1994) Simple and Rapid determination of phytase activity. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International* 77: 760-764.
26. Entendiendo el estrés por calor en las ponedoras: Consejos de Manejo para Mejorar el Rendimiento del Lote en Climas Cálidos. Boletín técnico Hy Line.
27. Entendiendo la formación del esqueleto en la producción de huevo. Información técnica al día. Hy line.
28. Etches, R.J. (1987) Calcium logistics in the laying hen. *Journal of Nutrition* 117, 619-628. Fleming, R.H. (2008) Nutritional factors affecting poultry bone health. *Proceedings of the Nutrition Society* 67, 177-183.

29. FAO Estatistical year Book 2013. World food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2013
30. FARMER. M., ROLAND. D A. Sr. Saiid ECKMAN, M. K (1983b) Calcium metabolism in broiler breeders hens. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and egg shell quality in broiler breeders. *Poultry Science* 62: 465.
31. FEDNA. Fuentes de Calcio y Fósforo.
32. Frost, T.J., Roland, D.A. and Untawale, G.G. (1990) Influence of vitamin D₃, 1 α -hydroxyvitamin D₃, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibia strength and various production parameters in commercial laying hens. *Poultry Science* 69, 2008-2016.
33. Garlich, J.D. (1979). The phosphorus requirement of laying hens. *Proceedings Georgia Nutrition Conference*. pp. 104-114.
34. GHEISARI, A.A., SANEI, A., SAMIE, A., GHEISARI, M.M. and TOGHYANI, M. (2011) Effect of diets supplemented with different levels of manganese, zinc, and copper from their organic or inorganic sources on egg production and quality characteristics in laying hens. *Biological Trace Element Research* 142: 557-571.
35. Guía de Manejo Hy-Line, ponedoras comerciales W-36, 2015.
36. HA, T.Y., OTSUKA, M. and ARAKAWA, N. (1994) Ascorbate indirectly stimulates fatty acid utilization in primary cultured guinea pig hepatocytes by enhancing carnitine synthesis. *Journal of Nutrition* 124: 732-737.
37. HAMILTON, R. M. G. and THOMPSON. B K. (1980). Effects of sodium plus potassium to chloride ratio in practical-type diets on blood gas levels in three strains of White Leghorn hens and the relationship between acid-base balance and egg shell strength *Poultry Science* 59: 1294-1303.
38. HAMILTON. K. M G. and SIBBALD. I. R. (1977). The effects of dietary phosphorus on productive performance and egg quality of ten strains of white Leghorns. *Poultry Science* 56 1221-1228.
39. Harms, R. H., & Waldroup, P. W. (1971). The effect of high dietary calcium on the performance of laying hens. *Poultry science*, 50(3), 967-969.
40. Harms, R.H., R.E. Buresh, and H.R. Wilson. 1985. Sodium requirement of the turkey hen. *Br Poult Sci* 26:217-220.
41. HENUK, Y.L. and DINGLE, J.G. (2002) Practical and economic advantages of choice feeding systems for laying poultry. *World's Poultry Science Journal* 58: 199-208.
42. HODGES, R. D. (1969). pH and mineral ion levels in the blood of the laying hen (*Gallus domesticus*) in relation to egg shell formation *Comparative Biochemistry and Physiology* 28: 1243-1257.
43. HOLCOMBE, D J., ROLAND. D. A. Sr. and HARMS. R. H. (1975) of diets containing two different levels of calcium *Poultry Science* 54: 552

44. HOSSAIN, S.M. and BERTECHINI, A.G. (1998) Effect of varying manganese and available phosphorus levels in the diet on egg production and eggshell quality of layers. *Animal Feed Science and Technology* 71: 303-308.
45. HUGHES, R. J. (1985). The role of blood acid-base balance in egg shell formation. *Proceedings of the Sixth Australian Poultry and Stock Feed Convention, Melbourne*, pp. 316-321.
46. HUGHES, R. J. (1985). The role of blood acid-base balance in egg shell formation. *Proceedings of the Sixth Australian Poultry and Stock Feed Convention, Melbourne*, pp. 316-321.
47. Hurwitz, S. (1973) Regulation of calcium absorption by fowl intestine. *American Journal of Physiology* 225, 150-154.
48. Hurwitz, S. and Griminger, P. (1962). Estimation of Calcium and phosphorus requirements in laying hens by balance techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 3: 185-101.
49. Hurwitz, S. and Rand, N.T. (1965) Utilization of calcium from calcium sulfate by chicks and laying hens. *Poultry Science* 44, 177-181.
50. IENNARDS. R. M. and ROLAND. D. A., Sr. (1981). The influence of time of dietary calcium intake on shell quality *Poultry Science* 60: 2106-2113.
51. Johnston, M. and Ivey, E. (2006) Parathyroid and ultimobranchial glands: calcium metabolism in birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 11, 84-93.
52. Jones, G., Strugnell, S. and DeLuca, H. (1998) Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological Reviews* 78, 1193-1231.
53. KAYA, H., KAYA, A., CELEBI, S. and MACIT, M. (2013) Effects of dietary supplementation of essential oils and vitamin E on performance, egg quality and *Escherichia coli* count in excreta. *Indian Journal of Animal Research* 47: 515-520.
54. KEMPSTER, H.L. (1916) Food Selection By Laying Hens. *Journal of the American Association of Instructors and Investigators in Poultry Husbandry* 3: 26-28.
55. Keshavarz, K. (1998) Investigation on the possibility of reducing protein, phosphorus, and calcium requirements of laying hens by manipulation of time of access to these nutrients. *Poultry Science* 77, 1320-1332.
56. 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. *Poultry Science* 82: 1415-1422.
57. Koutoulis, K. C., Kyriazakis, I., Perry, G. C., & Lewis, P. D. (2009). Effect of different calcium sources and calcium intake on shell quality and bone characteristics of laying hens at sexual maturity and end of lay. *Int J Poult Sci*, 8, 342-348.

58. Kumar, M. A., Foster, G. V., & MacIntyre, I. (1963). FURTHER EVIDENCE FOR CALCITONIN A RAPID-ACTING HORMONE WHICH LOWERS PLASMA-CALCIUM. *The Lancet*, 282(7306), 480-482.
59. KUTLU, H.R. and FORBES, J.M. (1993a) Changes in growth and blood parameters in heat-stressed broiler chicks in response to dietary ascorbic acid. *Livestock Production Science* 36: 335-350.
60. Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. Madrid, España. 1° Edición: Julio 2002.
61. Leeson, S. (2007). Vitamin requirements: is there basis for re-evaluating dietary specifications?. *World's Poultry Science Journal*, 63(02), 255-266.
62. Leeson, S. (2007). Vitamin requirements: is there basis for re-evaluating dietary specifications? *World's Poultry Science Journal*, 63(02), 255-266.
63. LENNARDS. R. M. and ROIAND. D. A. Sr. (1981) 6 0 2106
64. LOKAEWMANEE, K., YAMAUCHI, K.E., KOMORI, T. and SAITO, K. (2014) Eggshell quality, eggshell structure and small intestinal histology in laying hens fed dietary Pantoea-6® and plant extracts. *Italian Journal of Animal Science* 13: 332-339.
65. Long, P.H., S.R. Lee, G.N. Rowland, and W.M. Britton. 1984. Experimental rickets in broilers: gross, microscopic, and radiographic lesions. I. Phosphorus deficiency and calcium excess. *Avian Ois* 28:460-474.
66. LYLE, G.R. and MORENG, R.E. (1968) Elevated environmental temperature and duration of post exposure ascorbic acid administration. *Poultry Science* 47: 4 10.
67. MA, W., GU, Y., LU, J., YUAN, L. and ZHAO, R. (2014) Effects of chromium propionate on egg production, egg quality, plasma biochemical parameters, and egg chromium deposition in late-phase laying hens. *Biological Trace Element Research* 157: 113-119.
68. MABE, I., RAPP, C., BAIN, M.M. and NYS, Y. (2003) Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. *Poultry Science* 82: 1903-1913.
69. Martínez-Cummer, M. A., & Leeson, S. (2005). Design of non-destructive methodologies to assess skeletal integrity in laying hens. *World's Poultry Science Journal*, 61(04), 583-598.
70. Martínez-Cummer, M. A., & Leeson, S. (2005). Design of non-destructive methodologies to assess skeletal integrity in laying hens. *World's Poultry Science Journal*, 61(04), 583-598.
71. MCKEE, J.S., HARRISON, P.C. and RISKOWSKI, G.L. (1997) Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal. *Poullry Science* 76: 1278-1286.

72. MCKEE, J.S., HARRISON, P.C. and RISKOWSKI, G.L. (1997) Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal. *Poultry Science* 76: 1278-1286.
73. MIKAELIAN, K. S. and SELL, J. L. (1991). Performance of laying hens fed various phosphorus levels continuously or phase fed incremental phosphorus levels. *Poultry Science* 60: 1916-1924.
74. MILES, R. D. and HARMS, R. H. (1982). Relationship between egg specific gravity and plasma phosphorus from hens fed different dietary calcium, phosphorus, and sodium levels. *Poultry Science* 61: 175-177.
75. MIYASAKI, T., SATO, M., YOSHINAKA, R. and SAKAGUCHI, M. (1995) Effect of vitamin C on lipid and carnitine metabolism in rainbow trout. *Fisheries Science* 61: 501-506.
76. MONGIN, P. and SAUVEUR, B. (1979). Plasma inorganic phosphorus concentration during egg-shell formation: effect of the physical form of the dietary calcium. *British Poultry Science* 20: 401-412.
77. Mongin, P. and Saveur, S. (1974) Voluntary food and calcium intake by the laying hen. *British Poultry Science* 15, 349-359.
78. MURRAY, D.L., BRAKE, J., THAXTON, J.P. and SATTERLEE, D.G. (1988) Effect of adrenocorticotropin and dietary ascorbic acid on the graft-versus-host reaction capacity of chickens. *Poultry Science* 67: 313-318.
79. Newman, S. and Leeson, S. (1997) Skeletal integrity in layers at the completion of egg production. *World's Poultry Science Journal* 53, 265-277.
80. OUSIER, L. E. (1980). *Science* 99: 1480-1484.
81. PARDUE, S.L. and THAXTON, J.P. (1986) Ascorbic acid in poultry: a review. *World's Poultry Science Journal* 42: 107-123.
82. PARDUE, S.L., THAXTON, J.P. and BRAKE, J. (1985) Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. *Journal of Applied Physiology* 58: 1511-1516.
83. Paul H.S., and Snetsinger, D.C. (1960) Dietary Calcium and Phosphorus and variations in plasma alkaline phosphatase activity in relationship to physical characteristics of eggshells. *Poultry Science* 48: 241-251.
84. Rabon Júnior, H. M., & Roland, D. A. (1985). Solubility comparisons of limestones and oyster shells from different companies, and the short term effect of switching limestones varying in solubility on egg specific gravity. *Poultry Science*, Champaign, 64, 37-38.
85. Rao, K.S. and Roland, D.A., Sr (1990) Influence of dietary calcium and phosphorus on urinary calcium in commercial leghorn hens. *Poultry Science* 69, 1991-1997.

86. ROLAND, D. A., Sr. and FARMER. M. (1982). Studies concerning possible mechanisms for the varying response of different phosphorus levels on egg shell quality. *Poultry Science* 61: 1393.
87. Roland, D. A. (1986). Egg shell quality III: calcium and phosphorus requirements of commercial leghorns. *World's Poultry Science Journal*, 42(2), 154-165.
88. Roland, D. A. (1986). Eggshell quality IV: oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. *World's Poultry Science Journal*, 42(02), 166-171.
89. Roland, D. A. (1986). Eggshell quality IV: oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. *World's Poultry Science Journal*, 42(02), 166-171.
90. Roland, D. A., & Farmer, M. (1984). Egg shell quality II: Importance of time of calcium intake with emphasis on broiler breeders. *World's Poultry Science Journal*, 40(03), 255-260.
91. ROLAND, D. A. Sr. FARMER. M. and MARPLE, D. (1986) Calcium and its relationship to excess feed consumption. body weight. egg size. fat deposition. shell quality and kidney liver hemorrhagic syndrome. *Poultry Science* 65: (in press).
92. RUGG, W.C. (1925) Feeding Experiments, Free Choice of Feeds. Victoria Department of Agriculture Bulletin 54: 36-56.
93. SAUVEUR. B. and MONGIN.P. (1978). Interrelationships between dietary concentration of sodium, potassium and chloride in laying hen. *British Poultry Science* 19: 475-485.
94. SAZZAD, H.M., BERTECHINI, A.G. and NOBRE, P.T.C. (1994) Egg production, tissue deposition and mineral metabolism in two strains of commercial layers with various levels of manganese in diets. *Animal Feed Science and Technology* 46: 271-275.
95. Scanes, C.G., Campbell, R. and Griminger, P. (1987) Control of energy balance during egg production in the laying hen. *Journal of Nutrition* 117, 605-611.
96. SCHOLZ-AHRENS, F.K., SCHAAFSMA, G., VAN DER HEUVEL, E.G., SCHREZENMEIR, J. (2001) Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition* 73: 459S-464S.
97. SELL. J. L. (1979) Phosphorus requirement of laying hens: A basic approach *Feed Management* 30: 24.
98. SENGOR, E., YARDIMCI, M., CETINGUL, S., BAYRAM, I., SAHIN, H. and DOGAN, I. (2007) Effects of short chain fatty acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens. *South African Journal of Animal Science* 37: 158-163.
99. Shane, S.M., R.J. Young, and L. Krook. 1969. Renal and parathyroid changes produced by high calcium intake in growing pullets. *Avian Dis* 13:558-567.

100. Singh, P. K. (2008). Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal*, 64(04), 553-580.
101. Singh, P. K., & Khatta, V. K. (2004). Economics of broilers raised on phytase supplemented diets. *Indian Journal of Animal Research*, 10(2), 121-124.
102. Solomon, S. E. (2002). The oviduct in chaos. *World's Poultry Science Journal*, 58(01), 41-48.
103. SOLTAN, M.A. (2008) Effect of organic acid supplementation on egg production, egg quality, and some blood serum parameters in laying hens. *International Journal of Poultry Science* 7: 613-621.
104. STEFANELLO, C., SANTOS, T.C., MURAKAMI, A.E., MARTINS, E.N. and CARNEIRO, T.C. (2014) Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. *Poultry Science* 93: 104-113.
105. STEVENSON, M. H. (1983). The effect on egg production of adding sodium carbonate and potassium carbonate to a practical-type layers diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34: 1358-1360.
106. SWIATKIEWICZ, S., KORELESKI, J. and ARCZEWSKA, A. (2010) Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech Journal of Animal Science* 55: 294-306.
107. Sykes, A.H. (1984) *Food Intake and Its Control*. Academic Press, London.
108. Tanaka, Y. and DeLuca, H. (1973) The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 154, 566-574.
109. TAYLOR, T. G. (1965). Dietary phosphorus and egg shell thickness in the domestic fowl. *British Poultry Science* 6: 79-87.
110. USAYRAN, N., FARRAN, M.T., AWADALLAH, H.H., AL-HAWI, I.R., ASMAR, R.J. and ASHKARIAN, V.M. (2001) Effects of added dietary fat and phosphorus on the performance and egg quality of laying hens subjected to a constant high environmental temperature. *Poultry Science* 80: 1695- 1701.
111. VOGT, H. and HARNISCH, S. (1983). Dietary acid-base ratio and egg shell quality. *Archiv fur Geflugelkunde* 47: 233-239.
112. WALDROUP, P.W., WATKINS, S.E. and HELLWIG, H.M. (2005) Influence of sodium source and level on performance of second-cycle hens fed diets with different levels of nonphytate phosphorus. *International Journal of Poultry Science* 6: 399-407.
113. Whitehead, C. C., & Keller, T. (2003). An update on ascorbic acid in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 59(02), 161-184.
114. Wideman, R.F., Jr., J.A. Closser, W.B. Roush, and B.S. Cowen. 1985. Urolithiasis in pullets and laying hens: role of dietary calcium and phosphorus. *Poult Sci* 64:2300-2307.

115. XIAO, J.F., ZHANG, Y.N., WU, S.G., ZHANG, H.J., YUE, H.Y. and QI, G.H. (2014) Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. *Poultry Science* 93: 380-388.
116. YESILBAG, D. and COLPAN, I. (2006) Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Revue de Medicine Veterinaire* 157: 280- 284.
117. YILDIZ, G., SAKAKLI, P. and GUNGOR, T. (2006) The effect of dietary Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on performance, egg quality characteristics and egg cholesterol content in laying hens. *Czech Journal of Animal Science* 51: 349-354.