

01673



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
División de Estudios de Posgrado e Investigación

**EFFECTO DE DOS FUENTES DE FÓSFORO SOBRE EL  
METABOLISMO DEL TEJIDO OSEO, CALIDAD DE CASCARÓN  
Y PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE GALLINAS EN PRODUCCIÓN.**

# **T E S I S**

Que para obtener el Grado de:  
**MAESTRO EN PRODUCCIÓN ANIMAL**  
**P R E S E N T A :**  
**MARTÍN AUDIFFRED PINEDO**

Asesores: MVZ. Fernando Pérez-Gil Romo.  
M.V.Z. Ernesto Ávila González  
Q.F.B. Rosa Isabel Sierra Amor

MÉXICO, D.F.

1997

**TESIS CON  
FALLA DE CUBIERTA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

### **A Alejandra:**

Mi gran compañera. Por su inmenso amor, paciencia, confianza y apoyo. Y por todos esos momentos que hemos vivido juntos, los cuales nos han ayudado a consolidarnos cada día más como pareja.

### **A Ma. Fernanda, Diego y Luis Javier:**

Por hacer despertar en mí, sentimientos que no se pueden explicar, pero están ahí como fuente de inspiración y compromiso para seguir adelante.

### **A mis padres, hermanos, sobrinos y familiares:**

Por ser una parte importante en mi vida y por todo el apoyo incondicional que siempre me han brindado en todo momento.

### **A mi Dios Padre Jesús:**

Porque gracias a él y a su inmenso amor me ha permitido vivir estos y otros momentos importantes en mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

- Al *Dr. Fernando Pérez Gil Romo* y al *Sr. Luis Muñoz Muñoz*, por su amistad, apoyo y confianza que siempre han depositado en mi, y por ser personas claves en mi vida que me han ayudado a lograr cosas que nunca imaginé. Eternamente gracias.
- A la *M.V.Z. Silvia Carrillo Domínguez*, por su amistad y por todo su apoyo en la realización de este trabajo.
- A los *Sres. Jesús y Gabriel Tostado Hernández*, por su gran amistad y confianza que siempre me han brindado.
- Al *Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"* y a la *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM*, por haberme dado mi formación profesional.
- A mis amigos de la *División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición*, por su amistad y por todos los momentos que vivimos juntos.
- A mis asesores de tesis por su ayuda y apoyo en la realización de este trabajo.

- A los *productores del sector agropecuario mexicano*, porque gracias a su nobleza y confianza me permiten seguir superándome cada día, con el compromiso de dar lo mejor de mi.
- Y a todas las personas que de alguna manera intervinieron en la realización del presente trabajo.

GRACIAS

## CONTENIDO

RESUMEN .....	1
I. INTRODUCCIÓN .....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	6
III. JUSTIFICACIÓN .....	34
IV. OBJETIVOS .....	36
V. HIPÓTESIS .....	38
VI. MATERIAL Y MÉTODOS .....	40
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49
VIII. CONCLUSIONES .....	82
IX. RECOMENDACIONES .....	84
X. LITERATURA CITADA .....	85

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

*Empieza*

*por hacer lo necesario.*

*Después*

*haz lo posible*

*Y de pronto*

*te encontraras haciendo lo imposible.*

*San Francisco de Asis.*

**RESUMEN**

AUDIFFRED PINEDO MARTIN. Efecto de dos fuentes de fósforo sobre el metabolismo del tejido óseo, calidad de cascarón y parámetros productivos de gallinas en producción (Bajo la dirección de Fernando Pérez-Gil Romo, Ernesto Avila González y Rosa Isabel Sierra Amor).

El fósforo es un nutrimento esencial en todas las especies animales. En la alimentación de las aves, 30% de su necesidad lo aportan ingredientes de origen vegetal, por lo que es necesario suplementar el porcentaje restante con fuentes adicionales. La roca fosfórica y el ortofosfato de calcio son las fuentes de fósforo más comunmente utilizadas. Sin embargo, el proceso de defluorinación de éstas fuentes es algunas veces tan deficiente que no alcanza la calidad que dicta la Norma Oficial Mexicana NOM-Y-192-1985. El flúor es un elemento que ingerido a elevadas concentraciones produce alteraciones tanto a nivel estructural como metabólico. Los objetivos de este trabajo fueron 1) evaluar el comportamiento sérico de la fosfatasa alcalina, 25-hidroxivitamina D3, 1,25-dihidroxivitamina D3, 2) determinar la calidad de huevo mediante el peso de huevo, peso de cascarón y gravedad específica, 3) analizar el consumo de alimento, producción de huevo, producción de masa-huevo y peso corporal y 4) determinar el contenido óseo de cenizas, flúor y fósforo; en gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar u ortofosfato de calcio defluorinado de las 30 a las 41 semanas de edad. Se emplearon 32 gallinas Dekalb (línea Amber link), las cuales se dividieron en 2 grupos (experimental y testigo). Las gallinas del grupo experimental recibieron una dieta práctica sorgo-soya con ortofosfato de calcio sin defluorinar (183 ppm de F total), y las gallinas del grupo testigo recibieron una dieta similar pero con ortofosfato de calcio defluorinado (20.98 ppm de F total) como fuente de fósforo. Los resultados mostraron que el consumo de alimento mostrado por las gallinas del grupo experimental fué menor que el presentado por las gallinas del grupo testigo ( $P < 0.1$ ). El peso corporal no se vió afectado ( $P < 0.05$ ). Tanto la producción de huevo como la producción de masa-huevo, se vieron afectadas de



manera negativa en el grupo experimental ( $P < 0.05$ ). La calidad de huevo en el grupo experimental mostró el siguiente resultado: el peso de huevo se incrementó ( $P < 0.05$ ), el peso del cascarón disminuyó ( $p < 0.05$ ) y la gravedad específica no se vió afectada ( $P < 0.05$ ). La actividad de la fosfatasa alcalina no mostró diferencias entre ambos grupos ( $p < 0.05$ ), así mismo tampoco se presentaron diferencias en los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D3 ( $P < 0.05$ ). Los niveles de 1,25-dihidroxivitamina D3 fueron superiores en el grupo experimental. Tanto en contenido óseo de cenizas como de fósforo no se vieron afectados por la inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar ( $P < 0.05$ ). El contenido óseo de flúor sí mostró diferencias entre el grupo experimental y testigo ( $P < 0.05$ ), siendo mayor en el primer grupo. Los resultados indican que los parametros productivos más afectados por la presencia de elevadas concentraciones de flúor en la dieta fueron el consumo de alimento, producción de huevo y producción de masa-huevo. Mientras que el metabolito que sufrió mayor cambio fue la 1,25-dihidroxivitamina D3, encontrándose en niveles superiores en las aves que recibieron ortofosfato de calcio sin defluorinar.

## I. INTRODUCCION

El fósforo es un nutrimento esencial en todas las especies animales, incluyendo al hombre. Probablemente es el elemento mineral que juega el papel metabólico más variado en todos los organismos vivos (111). En la alimentación de las aves, independientemente de su importancia fisiológica, el fósforo representa el tercer nutrimento más caro, después de la energía y proteína (7). Aproximadamente 30 % del requerimiento de este elemento lo aportan ingredientes de tipo vegetal, por lo que se manifiesta la necesidad de suplementar el porcentaje restante con fuentes adicionales. Entre estas últimas las más comunmente utilizadas son las de origen inorgánico y dentro de éstas, la roca fosfórica y el ortofosfato de calcio son las fuentes más importantes en el mercado (138). Sin embargo, es un hecho que la gran mayoría de los productores de éstos insumos no las defluorinan o su proceso de defluorinación es tan deficiente que no alcanza la calidad requerida para cumplir con la Norma Oficial Mexicana Obligatoria (NOM-Y-192-1985) (Cuadro 1) (86). Entendiéndose que una fuente de fósforo está defluorinada, cuando su contenido de flúor no excede en más de una parte de este mineral por cada cien partes de fósforo (141).

La importancia que tiene el flúor (F) en la alimentación de las aves, y en especial en la gallina de postura, no radica en su deficiencia sino en los problemas ocasionados al

ingerirse en elevadas concentraciones presentes en agua o en las fuentes de fósforo utilizadas (70). El F una vez absorbido por el organismo, se dirige al tejido óseo, donde produce diversas acciones, tanto a nivel estructural como metabólico. En este aspecto cabe señalar que uno de los metabolismos más afectados ante la presencia excesiva de F es el del calcio (75), mineral que cobra particular interés en la gallina en postura, que se considera poseer el metabolismo de calcio más eficiente dentro del reino animal (64).

#### CUADRO 1

NORMA OFICIAL MEXICANA OBLIGATORIA NOM-Y-192-1985 PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO-ALIMENTOS BALANCEADOS. INGREDIENTES FOSFATOS DE CALCIO COMO FUENTE DE FOSFORO Y CALCIO.

Especificaciones	% mínimo	% máximo
Humedad		5.0
Fósforo total	18.0	
Calcio total	13.0	28.0
Flúor		0.20 *
Arsénico		0.005

\* Relación fósforo-flúor 100:1.

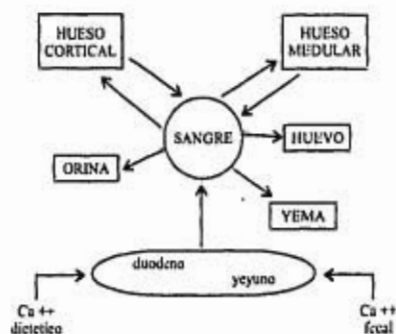
Fuente: Diario Oficial. Miércoles 13 de Mayo de 1987.

Una de la líneas de investigación del Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, tiene como objetivo estudiar la Fisiología de la Nutrición de las aves. Es presente trabajo forma parte de los proyectos de dicha línea.

## II. REVISION DE LITERATURA

Es indudable que dentro del reino animal, no existe especie animal que pueda metabolizar el calcio más eficientemente como las aves. Así por ejemplo, una gallina que produce alrededor de 290 huevos a lo largo de su primer ciclo de postura, movilizará cerca de 1500 mg/kg de calcio al día para formar los cascarones. Esta cifra resulta ser extraordinariamente grande, si se compara con la cantidad de calcio que una vaca lechera secreta a la leche que produce diariamente (50 mg/kg de peso corporal) o a la movilizada por una mujer lactando que produce 1 litro de leche al día (20 mg/kg) (116).

El transporte de esta enorme cantidad de calcio hacia el cascarón, involucra a algunos sistemas fisiológicos presentes en la gallina de postura (42). Los compartimentos que participan en dicho transporte se muestran en la Figura 1.



**Figura 1.** Compartimentos involucrados en el transporte de calcio en la gallina de postura.  
Fuente: Etches, J., 1987 (42).

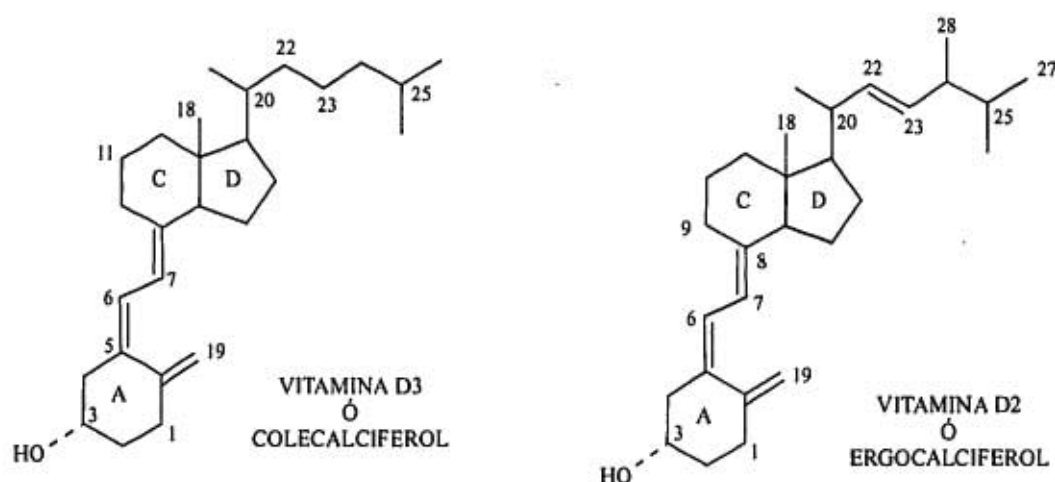
El calcio es uno de los elementos clave requeridos para el mantenimiento y supervivencia de organismos superiores. La mayoría de éste (99%) se encuentra asociado al esqueleto, pero existen cantidades significativas en los compartimentos intra y extracelulares que juegan un papel de vital importancia en procesos fisiológicos y bioquímicos tales como la contractibilidad muscular, coagulación sanguínea, irritabilidad neuromuscular, activación enzimática entre otras (54,111).

Pocos elementos, si los hay, pueden estar involucrados en tantas reacciones metabólicas como el calcio, por lo que su control dentro de límites estrechos es de suma importancia. En este aspecto, el control hormonal parece ser el factor que ejerce mayor influencia sobre los reservorios corporales de este elemento. Cuatro sistemas endócrinos regulan estos procesos: la vitamina D (1,25-Dihidroxitamína D3), la hormona paratiroidea, la calcitonina y los estrógenos (69,117,129).

## **2.1 VITAMINA D**

La vitamina D, un seco-esteroide (91) es considerada como el factor más importante que determina la tasa de absorción del calcio a nivel intestinal y mantiene la homeostásis de este elemento(36,79).Las dos formas de mayor importancia son la vitamina D3 o colecalciferol y la vitamina D2 o ergosterol

(Figura 2) (91). Sin embargo las aves sólo pueden metabolizar eficientemente la primera, ya que la segunda no es funcional para ellas (posee sólomente 1/10 de actividad de la D3) (14,76, 91).



**Figura 2.** Estructura química de la vitamina D2 (ergocalciferol) y de la vitamina D3 (colecalciferol).  
Fuente: Norman, A., 1987 (91).

### 2.1.1 PROCESO DE BIOSINTESIS

Durante la síntesis normal de esteroides en el hígado se produce el precursor de la vitamina D3 (7-dehidrocolesterol), el cual es transportado vía sistema circulatorio a la piel, donde por acción de la luz ultravioleta se sintetiza la vitamina D3. Este metabolito producido o procedente de la dieta, es transportado por proteínas hacia el hígado, donde

sufre una segunda hidroxilación en la posición 25 para formar la 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25-OH-D<sub>3</sub>) (37,91). Se ha observado que tanto el intestino como el riñón de las aves, son capaces de sintetizar este metabolito en algún grado (134).

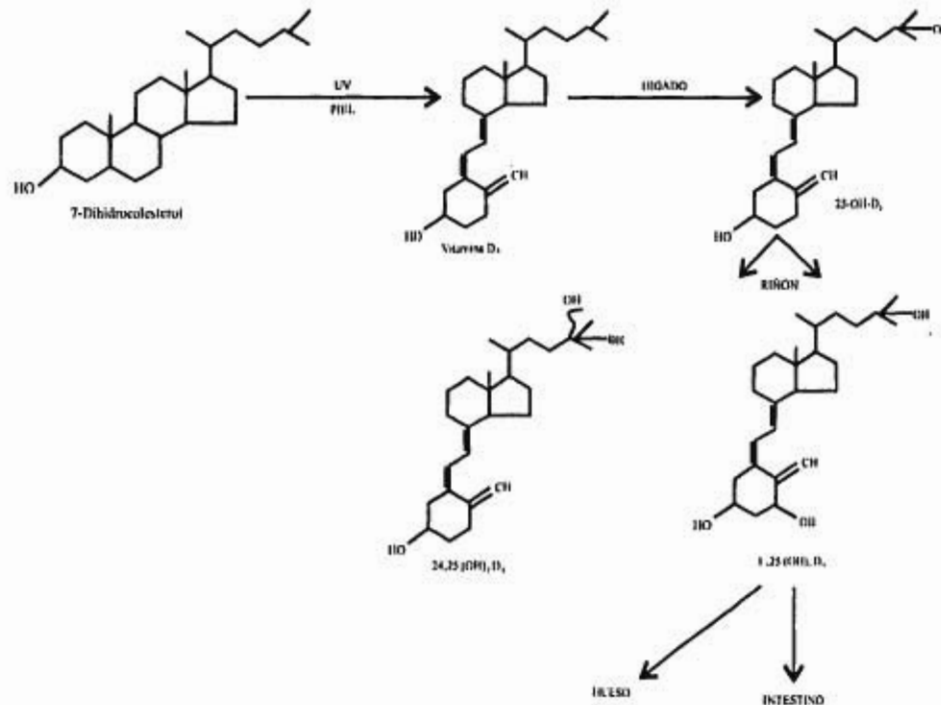
Posteriormente la 25-OH-D<sub>3</sub> viaja al riñón para hidroxilarse nuevamente ahora en posición 1 y formar la 1,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) o en posición 24 y sintetizar la 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (91). La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> es la forma metabólicamente activa de la vitamina D, mientras que la 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> no se le ha encontrado alguna función biológica específica de importancia (36,91); aunque parece ser, que bajo ciertas condiciones fisiológicas, es necesaria junto con la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> para regular la movilización del calcio durante el proceso de calcificación del cascarón (133); así como, para que se lleve a cabo una incubabilidad normal del huevo (92) (Figura 3).

### 2.1.2 ACCIONES BIOLÓGICAS

La principal función de la vitamina D es la de coordinar los procesos celulares en intestino, riñón y hueso, esenciales para la homeostásis mineral (100).

A nivel intestinal la forma activa de la vitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) promueve la absorción de calcio (Ca) y fósforo (P) a través de las células epiteliales (16,60,90).





**Figura 3.** Biosíntesis de la Vitamina D.  
Fuente: Norman, A., 1987 (91).

El mecanismo por el cual ocurre esto no es claro, pero parece ser que la forma activa de la vitamina D entra al enterocito por difusión pasiva, donde se liga con un receptor en el citosol, el cual posteriormente es transportado al núcleo. El complejo formado se liga a la cromatina nuclear donde se inicia la producción de proteínas ligadoras de calcio (41), vía transcripción genética. Esta proteína aparece en la membrana "borde de cepillo" permitiendo al calcio entrar al enterocito y ser secuestrado en vesículas o mitocondrias. Posteriormente el calcio, es expulsado al fluido intersticial en la parte basolateral de las membranas. La permeabilidad de

las membranas de los enterocitos también es incrementada por la vitamina D, permitiendo un aumento en el flujo (del lumen al plasma) de calcio, el cual después es expulsado (129).

Pike (100) señala que, en el hueso la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  coordina las acciones remodeladoras de los osteoblastos y osteoclastos siendo su principal función la de promover la mineralización ósea. Aunado a esto, Suda et al (125) mencionan que la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  actúa sobre células de fenotipo osteoblastico para producir varias proteínas no colágenas que conducen a la formación de la matriz ósea.

La gallina de postura posee una estructura anatómica conocida como glándula calcárea, la cual es similar al intestino en el sentido de que también acumula  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (10), presentando receptores específicos para tal metabolito. A este nivel, la vitamina D va a apoyar el transporte de calcio en útero durante el proceso de calcificación (10,132).

Otras acciones de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que en años recientes han sido descubiertas, incluyen su participación en la proliferación y diferenciación celular de células hematopoyéticas (81), linfopoyéticas (78), óseas (39) y queratinocitos (62). También la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  es conocida por modificar la actividad de los linfocitos T y B, y por lo tanto de la respuesta inmune (125).

### 2.1.3 CONTROL DE SECRECION

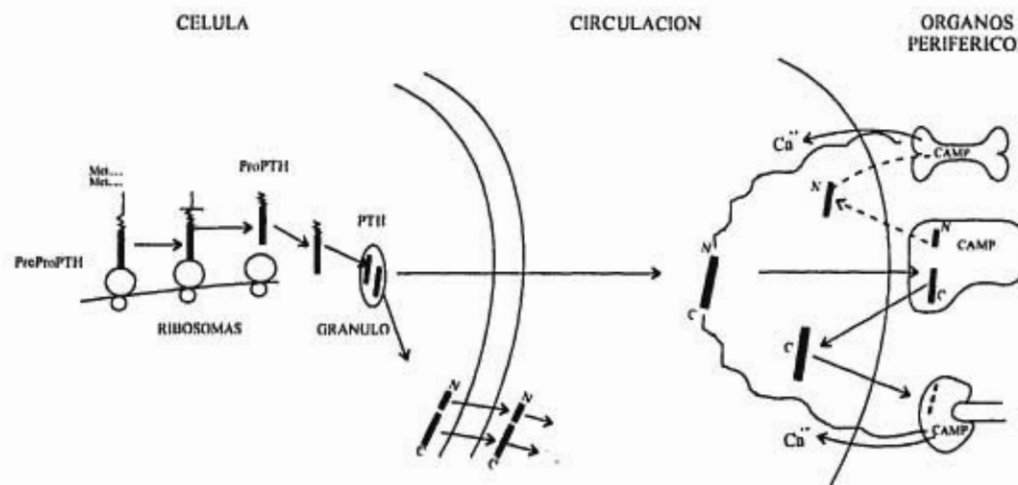
Las concentraciones sanguíneas de calcio y fósforo representan los principales factores para la actividad de la 1-alfa-hidroxilasa y por lo tanto de la biosíntesis de la 1,25(OH)2D3. Estos minerales funcionan directamente, o como en el caso del calcio a través de la modulación de la actividad de la hormona paratiroidea (PTH) (45,49,100,105). Mientras que ambos elementos son los reguladores más significativos de la producción de la 1,25(OH)2D3, otros factores adicionales, tales como, los estrógenos (101,118,128), la prolactina (123), la hormona del crecimiento (122) y la insulina (110), también juegan un papel regulatorio en el metabolismo del calcio.

En este sentido, los estrógenos en la gallina de postura tienen un papel de suma importancia, ya que se ha observado que estas hormonas (en especial el 17 beta estradiol), se liberan durante el ciclo ovulatorio, estimulando al sistema 1-alfa-hidroxilasa renal para producir 1,25(OH)2D3, favoreciendo de ésta manera, el incremento en los niveles de calcio sanguíneo (127). Dicho elemento bajo influencia estrogénica y androgénica se va almacenar como hueso medular para ser utilizado posteriormente durante la formación del cascarón (107). Por otra parte, se ha observado que concentraciones bajas de estrógenos sensibilizan al hueso medular para aumentar la actividad osteoclástica, misma que ocurre durante el proceso de calcificación (42,107).

## 2.2 HORMONA PARATIROIDEA

### 2.2.1 PROCESO DE BIOSINTESIS

La figura 4 muestra los eventos que tienen lugar en la biosíntesis de la hormona paratiroidea (PTH). En las células paratiroideas se sintetiza el precursor inicial de la PTH conocido como PreProhormona paratiroidea, que consiste en una cadena de 109 aminoácidos (aa) . Sin embargo, antes de ejercer alguna función biológica, sufre dos degradaciones, la primera ocurre dentro de la célula paratiroidea donde le son removidas 2 fracciones de metionina así como, otra secuencia de 23 (aa) formándose el precursor intermediario, la Prohormona paratiroidea (con 90 aa). Este último metabolito se fragmenta nuevamente en el aparato de Golgi, donde le son removidos 6 aa de su cadena para formar la hormona paratiroidea. La PTH ya madura (84 aa) es empaquetada en gránulos, los cuales en su mayoría son secretados a la circulación sanguínea. Parece ser que pequeñas fracciones de PTH son metabolizadas dentro de la misma célula. En la circulación la PTH es captada por las células de Kupffer del hígado, donde es fragmentada en sus porciones amino y carboxilo, los cuales son devueltos a la circulación para ejercer sus funciones biológicas (4,56).



**Figura 4.** Biosíntesis de la Hormona Paratiroidea.  
Fuente: Habener et al, 1984 (56).

### 2.2.2 ACCIONES BIOLÓGICAS

En forma general, se considera a la PTH como la responsable de regular los niveles de calcio en la sangre y fluidos extracelulares (56), y en las aves es considerada como el factor hormonal más crítico para el mantenimiento de los niveles de calcio (6,27).

Los órganos blanco donde actúa la PTH tanto en las aves, como en los mamíferos, son el riñón y el hueso. A nivel renal, la PTH se liga a receptores membranales específicos activando la adenilato-ciclasa para incrementar la producción de Adeninmonofosfato-cíclico (AMPC) (25,56). Esto trae como consecuencia una estimulación en la reabsorción de calcio (evitando su excreción) y una inhibición en la del fósforo

inorgánico (143). Asimismo, dicha activación va a estimular a la enzima 25-hidroxicolecalciferol 1-alfa-hidroxilasa para incrementar la síntesis de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (15,30,50,143,144).

En el hueso, la PTH actúa sobre diversos tipos de células teniendo múltiples efectos. Los osteocitos, osteoblastos y osteoclastos, así como sus precursores son estimulados por la PTH produciendo una degradación ósea con la consecuente liberación de calcio, fósforo y otros minerales (55,56).

Durante el periodo de postura en las aves, el hueso medular representa un órgano blanco de acción para la PTH movilizándolo durante la formación del cascarón (136). Este mecanismo es importante en la ave debido a que se puede transportar grandes cantidades de calcio al oviducto sin afectar los niveles de calcio iónico. La secuencia fisiológica por la cual ocurre esto, se cree que es la siguiente, a) la formación del cascarón trae como consecuencia una disminución en los niveles iónicos y totales de calcio en el fluido extracelular, b) esto estimula una secreción de PTH la cual, c) libera rápidamente calcio del hueso medular para, d) proveer más calcio al oviducto y reestablecer cualquier descenso en las concentraciones de calcio plasmático (27).

### 2.2.3 CONTROL DE SECRECION

La concentración del calcio iónico en el fluido extracelular es el más poderoso regulador de la secreción de PTH (56,129). Sin embargo, otros factores como el magnesio (55), las catecolaminas (17) y el cortisol (48) actúan también como moduladores de dicha secreción.

En la gallina de postura, durante el proceso de calcificación, la glándula calcárea remueve el calcio de la sangre. Cuando la absorción intestinal no puede sostener la tasa de utilización de calcio o cuando la calcificación ocurre durante la noche y el intestino está vacío, las concentraciones de calcio disminuyen. Esto trae como consecuencia una estimulación de las glándulas paratiroides para secretar la PTH y con esto incrementar una movilización mineral ósea. Este mineral óseo solubilizado libera más fósforo inorgánico del necesario para la formación del huevo llevando, a un estado de hiperfosfatemia. Sin embargo, este estado es temporal ya que la PTH también va a estimular la excreción urinaria de fósforo inorgánico y la inhibición de calcio (25), conservando este último elemento para su utilización en el proceso de calcificación del huevo (143).

### 2.3 CALCITONINA

En 1961 Copp y colaboradores (31) demostraron la

existencia de una segunda hormona reguladora del calcio a la que llamaron Calcitonina debido a su papel regulador del nivel o "tono" del calcio en la sangre.

### **2.3.1. PROCESO DE BIOSINTESIS**

La calcitonina (CT) es un polipéptido con estructura molecular de 32 aminoácidos en su cadena (4,129), que se sintetiza y secreta en la glándula ultimobranquial de la tiroides (04). A diferencia de la hormona paratiroidea, los 32 aminoácidos son esenciales para poder ejercer sus funciones biológicas (129).

### **2.3.2. ACCIONES BIOLÓGICAS**

La calcitonina es considerada el antagonista fisiológico de la hormona paratiroidea (4). Su papel en aves y mamíferos ha sido ampliamente reconocido (129). En forma general se señala que la CT tiene como función principal, abatir la hipercalcemia mas que la de inducir estados de hipocalcemia (8), ya que dicha hormona no produce disminuciones en las concentraciones plasmáticas de calcio en aves normocalcémicas(32,129).

A nivel renal, la CT promueve la excreción de calcio a fin de reestablecer los niveles de este catión a cantidades normales (4). Sin embargo, se ha señalado que en las aves su



acción sobre la excreción urinaria de calcio y fósforo inorgánico no parece tener mayor impacto (143).

En el tejido óseo de las aves, se cree que la CT actúa disminuyendo la reabsorción mineral, con lo cual se disminuyen las concentraciones sanguíneas de calcio y fósforo (27). Asimismo, se menciona que la CT estimula la actividad osteoblástica favoreciendo de esta manera la mineralización del hueso (15,30).

### **2.3.3. CONTROL DE SECRECION**

Es evidente que el estado de hipercalcemia resulta ser el factor más importante que estimula la secreción de CT por parte de la glándula ultimobranquial de las aves (129). Sin embargo, se ha demostrado en esta misma especie que el factor neuronal puede ser importante para la estimulación secretora (19,20).

En mamíferos, la tasa de secreción de la CT también se encuentra bajo influencia hormonal de naturaleza gastrointestinal, pudiendo ser el glucagon (20,21), la pancreozimina-colecistoquinina (19) y la gastrina (29), las cuales se liberan en respuesta a la ingestión de alimentos.

Este aspecto de la secreción de la CT no ha sido estudiado en las aves (129).

#### 2.4 ESTROGENOS

La madurez sexual de la gallina marca el principio de una serie de cambios relacionados con las hormonas secretadas por el ovario. Dichos cambios incluyen:

- a) incremento en las concentraciones plasmáticas de calcio (de 10 mg/100 ml a 20-25 mg/100 ml) (42,66).
- b) aumento en la absorción del calcio (67,71).
- c) almacenamiento del calcio en el hueso medular (11,71,114).
- d) inicio de la actividad en útero, al formarse el primer cascarón (42,67). Se ha observado que las hormonas gonadales, en especial el 17 beta estradiol, estimulan al sistema 1-alfa-hidroxilasa renal para sintetizar 1,25(OH)2D3 (9,128,132) y con esto se incrementan los niveles de calcio plasmático (132). Asimismo los estrógenos son reconocidos como el estímulo primario para el desarrollo de la glándula calcárea (51,91), y un factor que sensibiliza al hueso medular para iniciar su actividad osteoclástica, misma que ocurre durante el proceso de calcificación (42).

#### 2.5 ABSORCION INTESTINAL DEL CALCIO

La mayoría del calcio presente en el alimento, se

encuentra formando complejos con otros constituyentes dietarios. Estos complejos deben fraccionarse para que el calcio pueda ser liberado y de esta forma poder absorberse (2). El pH presente en los segmentos intestinales juega un papel muy importante en la absorción intestinal del calcio (109). Así por ejemplo, la presencia del ácido gástrico parece incrementar la solubilidad de los complejos (80), haciendo a los segmentos anteriores intestinales los sitios de mayor capacidad para absorber calcio (67).

Existen diversos factores que pueden influir sobre la absorción intestinal del calcio, tales como, algunos componentes vegetales (fitatos, celulosa, ácido urónico, oxalatos, arginatos) (58,74); así como, la edad de la gallina (47), la etapa del ciclo de postura (68), el estado de las reservas óseas (44,85,94) y el tamaño de la partícula en que se proporciona la fuente de calcio (53,77). Cabe señalar en este sentido, que recientemente se han encontrado otros factores que pueden influir sobre la absorción de calcio en la gallina de postura, como la hora del día en que se consume el calcio dietético (34,44); así como, la línea genética de la gallina (119,140).

### **2.5.1 MECANISMOS INTESTINALES DE ABSORCION**

La absorción de calcio en el intestino involucra dos procesos fisiológica y nutrimentalmente independientes: un

proceso transcelular saturable y otro paracelular no saturable (16).

**a) Proceso transcelular saturable**

Este mecanismo se caracteriza por estar sujeto a la regulación fisiológica y nutrimental de la vitamina D, y se lleva a cabo en la parte proximal del intestino delgado (duodeno y yeyuno proximal) (96). El movimiento del calcio por esta ruta involucra tres pasos secuenciales, a) su entrada a la célula vía membrana "borde de cepillo", b) su difusión a través del citoplasma, en el curso del cual, el calcio interactúa con moléculas ligadoras de calcio (38), y c) su expulsión de la célula al líquido extracelular (16).

**b) Proceso paracelular no saturable**

En este caso el calcio se mueve paracelularmente, es decir, entre las células de la mucosa intestinal, y además se lleva a cabo a todo lo largo del intestino delgado (principalmente en yeyuno distal (96) y en íleon (13,96)). Este mecanismo es independiente de una regulación fisiológicanutrimental, pero dependiente de gradientes electro-químicos dentro del intestino (16). Se ha demostrado que sustancias tales como cadenas medianas de triglicéridos (73), aminoácidos como la L-lisina y L-arginina (139) estimulan la absorción del calcio al modificar las uniones celulares del intestino, favoreciendo el movimiento paracelular. Este último aspecto, ha sido observado en ratas,

pero no en aves (109).

Cabe señalar que en la gallina de postura se han sugerido (67) dos tipos de regulación en la absorción intestinal de calcio, los cuales difieren en cuanto a estímulo, sitio y tiempo de respuesta. El primero se refiere a un incremento en la absorción de calcio durante la formación del cascarón, en donde el tiempo de respuesta es muy corto y ocurre a todos los niveles del intestino, excepto en íleon distal. El segundo se caracteriza porque es dependiente del inicio de la postura y al estado de las reservas óseas del calcio, asimismo su respuesta está restringida al duodeno.

#### **2.6 INTERACCIONES CALCIO-FOSFORO DIETARIO Y SU CONTROL HOMEOSTATICO EN LA GALLINA DE POSTURA**

Las concentraciones plasmáticas de calcio en la gallina de postura fluctúan diariamente entre 20 y 25 mg/decilitro (42).

Durante los periodos de obscuridad y en ayunas, la gallina generalmente se encuentra en estado activo de formación del cascarón, en este momento, la secreción de calcio de la sangre es de aproximadamente de 100-200 mg/hora. De continuar esta tasa de secreción, y no tener alguna fuente disponible de calcio, las reservas de este elemento se agotarían en un tiempo no mayor de 7-15 minutos (42). Sin embargo, un incremento en la absorción intestinal (65) y la movilización

ósea (72) son fuentes alternativas para cubrir esas demandas. Ambas opciones dependerán de las concentraciones de calcio presentes en la dieta (71).

Se ha demostrado que la cantidad de calcio y fósforo contenidos en la dieta ejercen un profundo efecto sobre la tasa de absorción intestinal de calcio (85). Hablando en términos absolutos, la absorción de calcio y el consumo del mismo guardan una relación proporcional, es decir, a consumos elevados de calcio existe una absorción incrementada del mismo. Sin embargo, si se considera la tasa de absorción en función al porcentaje del consumo, la relación resulta inversa; esto es, conforme disminuye el consumo de calcio, se incrementa la tasa de absorción (67). Resultados obtenidos al respecto se resumen en el Cuadro 2.

**CUADRO 2**  
**ABSORCIÓN DEL CALCIO EN FUNCIÓN A SU CONSUMO EN GALLINAS**  
**DURANTE LA FORMACIÓN DEL CASCARÓN**

Ca en dieta (%)	Consumo de Ca (mg/d)	Absorción de absoluto mg/d	Ca % del consumo
0.59	495	400	80.8
1.76	1,715	1,310	76.3
3.94	3,920	2,430	62.0

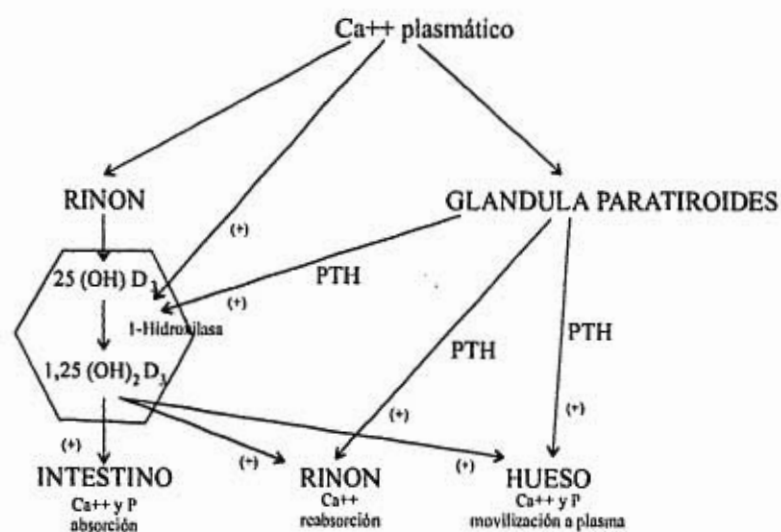
\* Medido con ayuda de <sup>45</sup>Ca Hurwitz y Bar ( 67 )

Los datos del cuadro anterior muestran la gran adaptabilidad de las gallinas a los diferentes contenidos de calcio presentes en la dieta. En caso de consumos bajos de calcio, la capacidad de absorción está mediada por la hormona paratiroidea y por la estimulación directa a la 1-alfa-hidroxilasa renal, con lo cual se incrementa la síntesis de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  y por consiguiente, la absorción de calcio se incrementa (Figura 5) (35,104,108). Cabe señalar, que esta respuesta además de intervenir la proteína ligadora de calcio (85), otros constituyentes intestinales como la adenosin trifosfatasa (85) y la leucina aminopeptidasa (130) potencializan el incremento en la absorción.

Por otra parte, se ha mostrado que niveles bajos de fósforo en la dieta, también estimulan la síntesis de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , y por consiguiente la absorción de calcio (18,46,85,108), aún en presencia de niveles normales o elevados de calcio en la dieta (85).

Sin embargo, el mecanismo por el cual se presenta este fenómeno es posiblemente mediado por un "Factor de Crecimiento" análogo a la insulina (FCAI) (57) y no por la acción de la hormona paratiroidea (como en el caso de una deficiencia de calcio), ya que esta última se encuentra inhibida (Figura 6) (36,63,108). Este último punto es de suma importancia, ya que al estar inhibida la hormona paratiroidea, ocurre una excreción elevada de calcio a través de la orina

(36,143), y de continuar ésta pérdida por un tiempo prolongado, conduce a un estado de osteopenia (108).

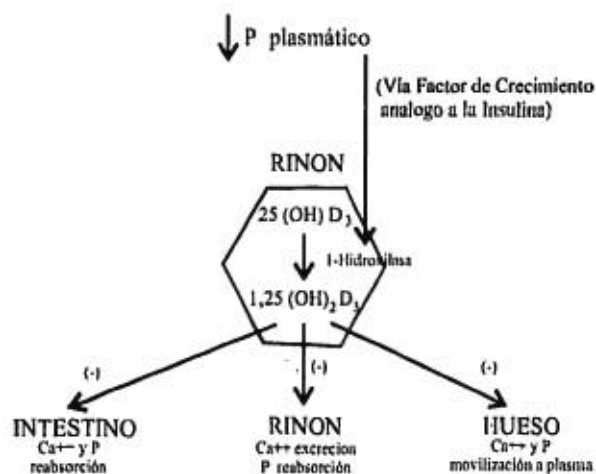


**Figura 5.** Respuesta fisiológica ante bajos niveles plasmáticos de calcio. Fuente: Roland, D., 1993 (108).

Con respecto a la función del hueso medular como fuente alternativa de calcio para la formación del cascarón, existen varias evidencias que apoyan tal función (23,43). Primeramente, la tasa de recambio del hueso medular es por lo menos del doble que la del hueso cortical en esos momentos (3,65). Segundo, el hueso medular está presente en las gallinas sólo cuando la ovulación es eminente, y éste se forma bajo influencia estrogénica y androgénica (107). Finalmente, los niveles de fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina, las cuales reflejan actividad osteoclástica y osteoblástica respectivamente, cambian de manera alternante,



es decir, durante los periodos de calcificación, el nivel de fosfatasa ácida es alta, mientras que el de fosfatasa alcalina lo está cuando no está ocurriendo la formación del cascarón (42,131).



**Figura 6.** Respuesta fisiológica ante bajos niveles plasmáticos de fósforo.  
Fuente: Roland, D., 1993 (108).

## 2.7 FOSFORO Y FUENTES DE OBTENCION

El fósforo ha sido ampliamente conocido como un nutrimento esencial en las dietas para aves, y representa el tercer nutrimento más caro después de la energía y proteína (7). El fósforo además de ser uno de los principales constituyentes del tejido óseo, tiene gran importancia en casi todos los procesos metabólicos (111).

En las dietas para aves, cerca del 30 % de la necesidad de este elemento lo aportan ingredientes de tipo vegetal, por lo que existe la necesidad de suplementar el porcentaje restante con fuentes adicionales (7). Dichas fuentes pueden ser de origen vegetal o de origen inorgánico. Dentro de éstas últimas, la roca fosfórica y el ortofosfato de calcio son las fuentes más importantes en el mercado (138).

Sin embargo, la gran mayoría de los productores de estos insumos, no las defluorinan, o su proceso de defluorinación es tan deficiente que no alcanza la calidad requerida en cuanto al contenido de flúor (F) para poder cumplir con la Norma Oficial Mexicana obligatoria (NOM-Y-192-1985) (Cuadro 1) (86).

Esto se pudo constatar en un estudio realizado por Medina y Romero (82), quienes evaluaron 201 productos denominados ortofosfatos. Sus resultados mostraron lo siguiente:

18.4 % de las muestras cumplieron con las normas de F y P.

17.4 % no cumplieron para P, pero sí para F.

29.9 % no cumplieron para F, pero sí para P.

34.4 % no cumplieron para F ni P.

Esto refleja la baja calidad de las fuentes de fósforo existentes en el mercado, principalmente en lo que al contenido de F respecta, y por consiguiente a los problemas ocasionados por su elevada ingestión.

## 2.8 FLUOR

Algunos depósitos geológicos que contienen fósforo, también tienen niveles tóxicos de otros elementos, de éstos, el flúor (F) es el más conocido (33). El F comprende sólo el 0.065% de la corteza terrestre, sin embargo, está ampliamente distribuido en la naturaleza (141).

### 2.8.1 FUENTES DE FLUOR

Los organismos pueden adquirir el F al inhalar el aire proveniente de áreas con emisiones industriales, por medio del agua de bebida, plantas de pastura, o por el uso de suplementos alimenticios de fosfato con altas concentraciones de F (141). De las diversas formas de dichos suplementos, los fluorosilicatos de sodio y potasio son los más tóxicos, seguido (en orden de toxicidad) por el flúor de sodio y potasio, roca fosfórica, criolita natural y sintética y por los fluorosilicatos de calcio y magnesio (87).

En la manufactura de suplementos de fosfato, el problema es concentrar la roca fluorapatita (conteniendo 13-14 % de P y 3-4% de F) a un fosfato de utilización biológica con una relación P:F de 100:1 (141). Los fosfatos alimenticios químicamente producidos son obtenidos por reacciones de ácido fosfórico con cationes de calcio, sodio, potasio o amonio,

siendo el calcio el más común. El grado Ca/P de los suplementos es una mezcla de fosfato mono y dicálcico, proporciones controladas por la cantidad de carbonato de calcio adicionado a la reacción (141). Tanto en los Estados Unidos de Norteamérica (89) como en México (82), la mayoría de las fuentes de fosfatos alimenticios no son defluorinadas.

### **2.8.2 METABOLISMO DEL FLUOR**

Después de la ingestión de F, su absorción por el tracto gastrointestinal es rápida. Una vez absorbido el F, éste entra al fluido extracelular y es depositado en hueso, dientes y tejidos suaves, o es excretado por los riñones (75). Por lo tanto, los riñones juegan un papel secundario al sistema esquelético en la regulación del F corporal. La excreción del F en el riñón se caracteriza por su filtración en el glomérulo, seguido de diferentes grados de reabsorción tubular, con una fracción reabsorbida de F filtrado, que varía entre 20 y 95%. Por lo tanto, la cantidad reabsorbida es dependiente de la tasa de filtración glomerular y de las concentraciones plasmáticas de F (142).

### **2.8.3 EFECTOS FISIOLÓGICOS**

Shupe (112) ha sugerido que la respuesta del organismo a los efectos del F está influenciada por: la cantidad de F ingerida, duración del periodo de ingestión, variaciones en el

F ingerido, especie animal, edad del animal al momento de la ingestión, nivel de nutrición, exposición a otros agentes (sinérgicos o antagonistas) estado de salud del animal, stress, así como por variaciones biológicas del individuo.

#### 2.8.3.1 EFECTOS SOBRE LA ESTRUCTURA OSEA

El hueso es un tejido que se compone de una matriz orgánica incrustada con sales cristalinas, sobre todo de calcio y fósforo. La fórmula de la sal cristalina más importante, llamada hidroxapatita, es la siguiente(54):  $3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}(\text{OH})_2$ . Asimismo, se encuentran pequeñas cantidades de carbonato, citrato, sodio, potasio y magnesio, los cuales parecen encontrarse adheridos en la superficie de los cristales de hidroxapatita, en lugar de estar organizados en cristales propios y distintos. Esta capacidad de adsorberse sobre los cristales de hueso es propia de muchos elementos que normalmente no se encuentran en el hueso (54). En el caso de los iones de F, éstos pueden sustituir iones hidroxilos de los cristales formando fluorapatita (141). El F va a incrementar el tamaño y perfección de los cristales en apatitas biológicas, y va a reducir la solubilidad mineral, por lo tanto, estabiliza la matriz ósea recién formada e inhibe la reabsorción ósea (145).

### 2.8.3.2 EFECTOS SOBRE EL METABOLISMO OSEO

Estudios histológicos han mostrado que el F ejerce efectos anabólicos sobre el tejido óseo (75), los cuales han sido clasificado por Rao (103) en las siguientes áreas:

- a) En la etapa inicial de producción de hueso, los osteoblastos (células mononucleares que liberan Fosfatasa Alcalina) sintetizan fibras de colágeno donde posteriormente se precipitarán las sales de calcio (54). A este nivel, el F puede estimular la actividad osteoblástica, resultando en la formación de una matriz ósea defectuosa, tanto en su estructura, como en su grado de mineralización (75).
  
- b) La actividad enzimática en hueso puede alterarse, por ejemplo, en presencia de un exceso de Mg, una inhibición de la actividad de la pirofosfatasa puede traer un decremento de la mineralización ósea. El metabolismo del citrato también puede ser inhibido. Asimismo, inhibidores del ácido cítrico pueden ser sintetizados. La interrupción de las actividades normales de estos sistemas pueden afectar la reabsorción ósea.
  
- c) Efectos hormonales secundarios (mayormente hiperparatiroidismo secundario) pueden inducirse debido a la falla en la disolución mineral, ya que existe una reducida solubilidad de la fluorapatita comparada con la de la

hidroxiapatita, y con ésto disminuyen las concentraciones de calcio iónico, y por lo tanto se estimula la desmineralización (75).

#### **2.8.4 IMPORTANCIA DEL FLUOR EN LA NUTRICION AVICOLA**

El interés que tiene el F en la nutrición de las aves no radica en su deficiencia, sino en los problemas ocasionados por su toxicidad que se presenta al consumir fuentes inorgánicas de fósforo y calcio no defluorinadas (70).

A pesar de que las aves son resistentes a altas concentraciones de F en la dieta (hasta 200 ppm (135)), éstas pueden provocar baja en el consumo de alimento (52,137), incremento en el contenido de cenizas en hueso (83), disminución en la tasa de crecimiento (137), y en la tasa de producción de huevo (52,83,137), así como en su calidad (52,83), y finalmente la incubabilidad también se ve afectada (135).

Michel et al (84) observaron mayores niveles de F óseo en aves hembras que en machos, y postularon que las primeras presentan ésta condición debido a un metabolismo óseo más intenso que el presentado por los machos. En la gallina en postura, se ha observado que durante el periodo activo de calcificación del cascarón, se incrementa la absorción de

calcio, junto con la del F, y posteriormente ambos elementos se dirigen al hueso para ser depositados.



### III. JUSTIFICACION

En las dietas para las aves, cerca del 30% de sus necesidades de fósforo la aportan ingredientes de origen vegetal, por lo que se manifiesta la necesidad de suplementar el porcentaje restante con fuentes adicionales. Dichas fuentes pueden ser de origen animal o de origen inorgánico, y dentro de estas últimas, destacan la roca fosfórica y el ortofosfato de calcio. Sin embargo, se ha observado que la mayoría de los fuentes de origen inorgánico disponibles en el mercado, muestran una baja calidad, principalmente a lo que a su contenido de flúor respecta.

El flúor es un elemento que ingerido a elevadas concentraciones en la dieta causa diversas alteraciones en el organismo, siendo el tejido óseo su principal blanco. Aquí el flúor va a producir innumerables acciones, tanto a nivel estructural como metabólico, donde se ha sugerido que uno de los metabolismos más afectados es el del calcio. Esto último cobra particular interés cuando se habla de la gallina en postura, que es considerada poseer el metabolismo de calcio más dinámico dentro del reino animal.

Por tales motivos, se hace necesario profundizar más sobre el efecto de algunos recursos fosforados con o sin flúor, y establecer el efecto que ellos tienen sobre la calidad del cascarón y algunos parámetros productivos. Por otro lado, se

requiere mayor información sobre algunos aspectos propios del metabolismo óseo, para así, poder tener una mejor idea de como se encuentran integrados todos estos factores.

#### IV. OBJETIVOS

##### 4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos que tiene una fuente de fósforo defluorinada y otra sin defluorinar sobre el metabolismo óseo, calidad de cascarón y parámetros productivos de gallinas en producción.

##### 4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

4.2.1 Analizar el comportamiento sérico de la Fosfatasa Alcalina, 25-hidroxivitamina D3 y de la 1,25-dihidroxivitamina D3 en gallinas de las 30 a las 41 semanas de edad, alimentadas con una dieta que incluye un ortofosfato de calcio sin defluorinar o un ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo.

4.2.2 Evaluar la calidad del huevo mediante la medición del grosor de cascarón, peso del huevo y gravedad específica procedente de gallinas de 30 a 41 semanas de edad cuando consumen como fuente de fósforo en la dieta un ortofosfato de calcio sin defluorinar o un ortofosfato de calcio defluorinado.

4.2.3 Conocer los efectos que sobre el consumo de alimento, producción de huevo, producción de masa-huevo y peso corporal, tiene un ortofosfato de calcio sin defluorinar y un

ortofosfato de calcio defluorinado cuando son consumido por gallinas de las 30 a 41 semanas de edad como fuente de fósforo en la dieta.

**4.2.4** Determinar el contenido de cenizas, flúor y fósforo en huesos procedentes de gallinas de 41 semanas de edad que consumieron un ortofosfato de calcio sin defluorinar o un ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta, a partir de las 28 semanas de edad.

## V. HIPOTESIS

**5.1** El consumo de alimento, la producción de huevo, la producción de masa huevo y el peso corporal, son inferiores en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que en el grupo de gallinas que consumen ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

**5.2** La calidad del huevo determinada al medir el grosor del cascarón, peso del huevo y gravedad específica, es inferior en las gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que la de las gallinas que consumen ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

**5.3** Las concentraciones séricas del fosfatasa alcalina son superiores en las gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar, que en las gallinas que consumen ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

**5.4** Las concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D3 y 1,25-dihidroxivitamina D3 son inferiores en gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que en gallinas que consumen ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

5.5 El contenido óseo de cenizas es superior en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

5.6 El contenido óseo de fósforo es inferior en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

5.7 El contenido óseo de flúor es mayor en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio sin defluorinar que en el grupo de gallinas que reciben ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo.

## VI. MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Departamento de Nutrición Animal del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" con la participación del Departamento de Pediatría de la Universidad de Cincinnati, Ohio, EUA.

### 6.1 ANIMALES EXPERIMENTALES Y ALOJAMIENTO

Se utilizaron 32 gallinas Dekalb (línea Amber Link), que se alojaron en jaulas individuales para aves en producción en el bioterio del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Se distribuyeron al azar en 2 grupos (de 16 gallinas cada uno), los cuales se designaron como grupo experimental y grupo testigo respectivamente. Se mantuvieron con temperatura controlada ( $19 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y recibieron 17 horas de luz artificial al día, controlada automáticamente por un reloj.

### 6.2 ALIMENTO

Se elaboraron 2 tipos de dietas: la primera consistió en una dieta práctica sorgo-soya con ortofosfato de calcio defluorinado (20.98 ppm) como fuente de fósforo (grupo testigo) y la segunda dieta fue similar a la primera, pero con ortofosfato de calcio sin defluorinar (183 ppm) como fuente de fósforo (grupo experimental) (Cuadro 3).

Cuadro 3

COMPOSICION DE LAS DIETAS SUMINISTRADAS A LAS GALLINAS DE LA SEMANA 28 A LA 41 DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO

% de inclusion

Ingredientes	Grupo Testigo <sup>a</sup>	Grupo Experimental <sup>a</sup>
Sorgo	66.13	66.13
Soya	23.82	23.82
Ortofosfato de calcio	1.22 <sup>d</sup>	1.22 <sup>e</sup>
Carbonato de calcio	7.73	7.73
Vitaminas <sup>b</sup>	0.25	0.25
Minerales <sup>c</sup>	0.05	0.05
DI- Methionina	0.14	0.14
Aceite vegetal	0.16	0.16
Sal	0.4	0.4
Pigmento	0.1	0.1

<sup>a</sup>. Análisis calculado (%): Proteína 16.0, Lis 0.89, met+cis 0.69, Ca 3.40, Pdisp 0.35. EM 2806 (kcal/kg).

<sup>b</sup>. Vit. A 5,000 UI, Vit.B12 0.004 g, Vit.K 2.0 g, Vit.B2 4.0g, Niacina 15.0 g, Cloruro de colina 200.0 g, D-pantotenato de calcio 6.0 g, Antioxidante B.H.T. 40.0 g.

<sup>c</sup>. Zn 50.0, Mn 100.0, Fe 100.0, Cu 10.0, I 0.30, Se 0.2 (g/kg).

<sup>d</sup>. Análisis químico (%): Ca 19.20, P 20.17, F 0.172.

<sup>e</sup>. Análisis químico (%): Ca 20.73, P 17.90, F 1.50.



### **6.3 DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El estudio se inició cuando las gallinas tenían 28 semanas de edad, momento en que recibieron cada grupo de gallinas las dietas experimentales correspondientes para un periodo de adaptación de 2 semanas; y así continuaron hasta el final del experimento (41 semanas de edad).

### **6.4 CONSUMO DE ALIMENTO Y PESO CORPORAL**

Las gallinas recibieron alimento y agua *ad libitum*. El consumo de alimento se registró diariamente en ambos grupos y se resumió cada 15 días. El peso corporal se registró cada 15 días.

### **6.5 PRODUCCIÓN DE HUEVO Y PRODUCCIÓN DE MASA-HUEVO**

Tanto la producción de huevo, como el parámetro masa-huevo se cuantificaron diariamente y resumieron cada 15 días. Este segundo parámetro fue calculado con base en la producción diaria por peso del huevo.

### **6.6 CALIDAD DEL HUEVO**

La calidad del huevo se evaluó cada 15 días, considerando los siguientes parámetros(102):

#### 6.6.1 PESO DEL HUEVO

6.6.2 **GROSOR DEL CASCARÓN:** se evaluó determinando el peso del cascarón y obteniendo su porcentaje con respecto al peso total del huevo.

6.6.3 **GRAVEDAD ESPECÍFICA:** este parámetro se basa en el concepto de que a mayor grosor del cascarón, mayor densidad tendrá el huevo. Para su determinación se utilizaron soluciones conteniendo diferentes cantidades de sal común, según recomendaciones de Quintana (102).

#### 6.7 PERIODOS Y HORAS DE MUESTREO DE SANGRE

Las muestras de sangre se tomaron a las 30, 33, 35, 39 y 41 semanas de edad de las gallinas. En cada uno de los periodos de muestreo se designó la hora de la toma de muestra de la manera siguiente: a las 2.5, 4.5, 6.5, 9.5, 15.5 y 22.5 horas *posovoposición* \* de tal forma que todo el grupo de aves cubriera un ciclo de postura \*\*.

##### 6.7.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

---

\* Se asumió que la ovoposición era seguida de una ovulación en un tiempo de 30 minutos (71)

\*\* Al día siguiente de la toma de muestra se verificó la producción de huevo con el objetivo de comprobar que dichas muestras cubrían el ciclo de postura

Cada muestra se obtuvo tomando aproximadamente 3 ml de sangre de la vena del ala, con una jeringa desechable estéril sin anticoagulante. Dicha muestra se colocó en un tubo de vidrio de 13X100 mm y se dejó reposar. Ya formado el coágulo, el tubo de vidrio se centrifugó a 2500 RPM durante un tiempo de 15-20 minutos para obtener el suero, el cual se colocó en tubos Eppendorf para ser almacenados en refrigeración (4°C) por un período máximo de 12 horas.

## **6.8 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS**

### **6.8.1 ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA**

Este análisis se realizó mediante un espectrofotómetro (Beckman mod.DU-70) utilizando *p*-nitrofenilfosfato como sustrato enzimático (Merk-México S.A.) a un pH de 9.8. Esta prueba tiene su fundamento en que las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico; al tener como sustrato el *p*-nitrofenilfosfato por acción de la enzima, se separa en *p*-nitrofenolato y fosfato, y se mide la extinción a 405 nm durante 3 minutos a 37°C. El suero remanente se almacenó a -70°C para análisis posteriores.

### **6.8.2 25-HIDROXIVITAMINA D3**

Este metabolito se determinó mediante el método sugerido por Hollis y Napoli (61).

### **6.8.3 1,25-DIHDROXIVITAMINA D3**

Este metabolito se determinó mediante el método sugerido por Hollis y Napoli (61).

## **6.9 ANÁLISIS DEL CONTENIDO MINERAL ÓSEO**

### **6.9.1 OBTENCIÓN DE LOS HUESOS**

Al finalizar el último período de muestreo (41 semanas de edad), 8 gallinas de cada grupo se sacrificaron por shock eléctrico, y se obtuvieron las tibias, fémures y húmeros.

### **6.9.2 TRATAMIENTO PREVIO ANÁLISIS**

Los huesos se limpiaron de todo tejido blando, posteriormente se almacenaron en etanol absoluto *priori* a la extracción de grasa, la cual se realizó por un período de 24 horas con una mezcla de etanol absoluto y dietileter en un aparato Goldfish, según método seguido por Van Toledo y Combs (137).

### **6.9.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

Se realizó mediante la calcinación de fragmentos de los huesos, en una mufla a 600°C por 8 horas, según método seguido por Frost *et al* (47).

#### **6.9.4 DETERMINACIÓN DE FLÚOR**

Este análisis se realizó utilizando un electrodo específico para flúor (40).

#### **6.9.5 DETERMINACION DE FÓSFORO**

Esta se realizó por un método colorimétrico sugerido por la A.O.A.C. (5).

### **6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

#### **6.10.1 CONSUMO DE ALIMENTO Y PESO CORPORAL**

Para cada uno de estos parámetros se empleó la t-student para grupos independientes con una significancia de 0.05 (124).

#### **6.10.2 PRODUCCIÓN DE HUEVO Y PRODUCCIÓN DE MASA-HUEVO**

Para cada caso se empleó la t-student para grupos independientes con una significancia de 0.05 (124).

#### **6.10.3 CALIDAD DEL HUEVO**

Para cada uno de los parámetros evaluados (peso de huevo,

grosor de cascarón y gravedad específica) se empleó la t-student para grupos independientes con una significancia de 0.05 (124).

#### **6.10.4 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS**

##### **6.10.4.1 FOSFATASA ALCALINA**

Al analizar las lecturas originales de los diferentes tratamientos, se observó que la mayoría de las medias y varianzas mostraban un efecto multiplicativo, es decir, conforme se incrementaba la media, la varianza la hacia de la misma manera. De tal manera que no se cumplió la suposición de homocedasticidad que exige un análisis de varianza. Por lo que los datos se transformaron a su expresión logarítmica para tratar de minimizar dicho efecto (120). Posteriormente se empleó un análisis de varianza con un diseño totalmente aleatorio con arreglo factorial 2x5x6 (124). Donde el primer factor considerado fue el tipo de dieta, el segundo fue el período de muestreo y el último fue la hora de la toma de muestra. El resultado de dicho análisis mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) únicamente en la interacción dieta x período, por lo que se aplicó otro análisis de varianza, ahora con arreglo factorial 2x5 , y posteriormente la prueba de Tukey para la comparación múltiple de medias con una significancia de 0.05 (124).

#### **6.10.4.2 25-HIDROXIVITAMINA D3 Y 1,25-DIHIIDROXIVITAMINA D3**

Para cada caso se empleó un análisis de varianza con un diseño totalmente aleatorio con arreglo factorial 2x4 (124). Donde el primer factor considerado fue el tipo de dieta y el segundo fue el período de muestreo. Para la comparación múltiple de medias se utilizó la prueba de Tukey con una significancia de 0.05 (124).

#### **6.10.5 ANÁLISIS DEL CONTENIDO MINERAL ÓSEO**

Para el análisis del contenido de cenizas, flúor y fósforo se empleó un análisis de varianza con un diseño totalmente aleatorio con arreglo factorial 2x3 (124). El primer factor considerado fue el tipo de dieta, y el segundo fue el tipo de hueso. Posteriormente se empleó la prueba de Tukey con una significancia de 0.05 para la comparación múltiple de medias (124).

## VII. RESULTADOS Y DISCUSION

### 7.1 CONSUMO DE ALIMENTO Y PESO CORPORAL

Como se puede apreciar en el Cuadro 4, el consumo promedio a lo largo de todo el estudio fue inferior en el grupo experimental, sin embargo, sólo se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.1$ ) a partir de las 38 semanas de edad. Estos resultados son similares a los señalados por Van Toledo y Combs (137) y Guenter y Hahn (52) quienes también observaron disminuciones en el consumo de alimento en aves que recibían niveles elevados de flúor en la dieta.

**CUADRO 4**

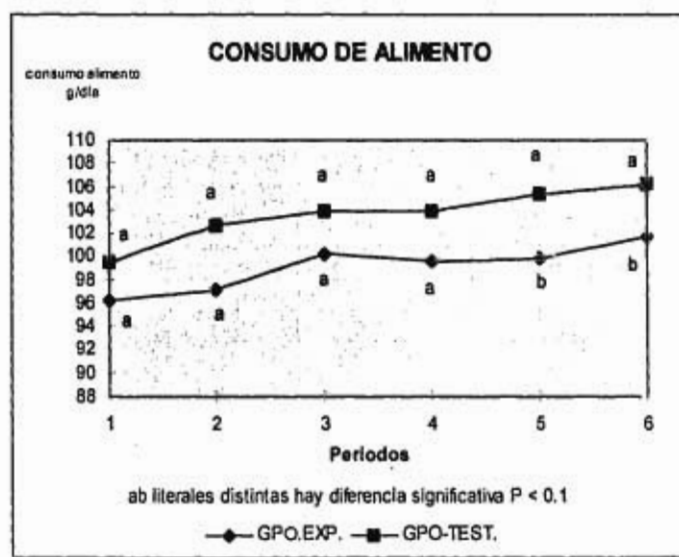
CONSUMO DE ALIMENTO ( $X \pm EE$ ) DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

Periodo	(semanas)	(g/ave/día) Ortofosfato de Ca sin defluorinar	Ortofosfato de Ca defluorinado
1	30-31	96.25 $\pm$ 4.47	99.48 $\pm$ 4.35
2	32-33	97.05 $\pm$ 3.77	102.59 $\pm$ 3.14
3	34-35	100.13 $\pm$ 3.54	103.90 $\pm$ 3.26
4	36-37	99.53 $\pm$ 3.20	103.80 $\pm$ 3.00
5	38-39	99.81 $\pm$ 2.02 <sup>b</sup>	105.31 $\pm$ 2.69 <sup>a</sup>
6	40-41	101.68 $\pm$ 2.56 <sup>b</sup>	106.19 $\pm$ 2.42 <sup>a</sup>
	X general	99.07 $\pm$ 0.83 <sup>b</sup>	103.54 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.1$ ).



Cabe destacar que el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorar mostró un consumo ascendente durante los tres primeros periodos, sin embargo, en el cuarto declinó ligeramente para posteriormente hacia el sexto periodo recuperarse (figura 7). Este comportamiento de consumo, donde se presenta una disminución al inicio y luego una elevación al final, es similar a lo mencionado por Van Toledo y Combs (137) en gallinas de postura y por Simon y Suttie(113) en ratas.



**Figura 7.** Comportamiento del consumo de alimento de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorar (grupo experimental) y ortofosfato de calcio defluorado (grupo testigo).

Existen diversas hipótesis que tratan de explicar dicho comportamiento. La primera (52) se refiere a que el flúor en

plasma se eleva a tal nivel que produce una repentina depresión del apetito y posteriormente el ave se recupera conforme el flúor es eliminado del plasma. La segunda (99) señala que los centros nerviosos del apetito son afectados por el flúor circulante en sangre. Y la última (126) sugiere que elevadas concentraciones de flúor en sangre provocan diversas alteraciones en la producción de ciertos metabolitos que van a deprimir el apetito.

Los datos de los pesos corporales registrados en el estudio (Cuadro 5), muestran que a pesar de que no se presentaron diferencias significativas entre los dos grupos testigo y experimental, este último presentó una tendencia a registrar menores lecturas con respecto al testigo.

#### CUADRO 5

PESO CORPORAL ( $\bar{X} \pm EE$ ) DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

edad (semanas)	(g) Ortofosfato de Ca sin defluorinar	(g) Ortofosfato de Ca defluorinado
33	1431 $\pm$ 52.35	1469 $\pm$ 53.04
36	1566 $\pm$ 48.97	1589 $\pm$ 41.40
38	1580 $\pm$ 37.99	1621 $\pm$ 32.44
40	1591 $\pm$ 32.10	1636 $\pm$ 27.04
43	1631 $\pm$ 29.62	1660 $\pm$ 23.82

No se presentaron diferencias significativas.

La tendencia mostrada por el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar, posiblemente se explique por los consumo de alimento presentado, ya que éstos siempre fueron inferiores a los obtenidos por el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio defluorinado. Asimismo, resulta interesante lo que mencionan Guenter y Hahn (52) en su trabajo, donde señalan que la síntesis de la yema tiene prioridad que la deposición de tejido corporal, cuando la disponibilidad de nutrimentos es limitada. Esto último cobra particular interés en el presente estudio, ya que si se observan los pesos de huevo registrados (ver cuadro 8), se hace evidente que el peso de huevo mostrado por el grupo de gallinas con ortofosfato sin defluorinar fue superior al obtenido por el grupo de gallinas con ortofosfato de calcio defluorinado. Esto sugeriría que las gallinas del grupo experimental mostraron mayor prioridad a la síntesis de la yema que la deposición de tejido corporal, y que el flúor posiblemente actuó como un factor que limitó la disponibilidad de los nutrimentos, comprometiéndolo de ésta manera la ganancia de peso corporal.

## **7.2 PRODUCCIÓN DE HUEVO Y PRODUCCIÓN DE MASA-HUEVO**

Los datos de producción de huevo se presentan en el Cuadro 6 y se muestran gráficamente en la figura 8.

Como se puede apreciar, sólo a partir de las 36 semanas de edad se encontraron diferencias estadísticamente

significativas ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, el grupo de gallinas que recibió ortofosfato de calcio sin defluorinar mostró siempre una tendencia inferior de producción que las gallinas que recibieron ortofosfato de calcio defluorinado.

#### CUADRO 6

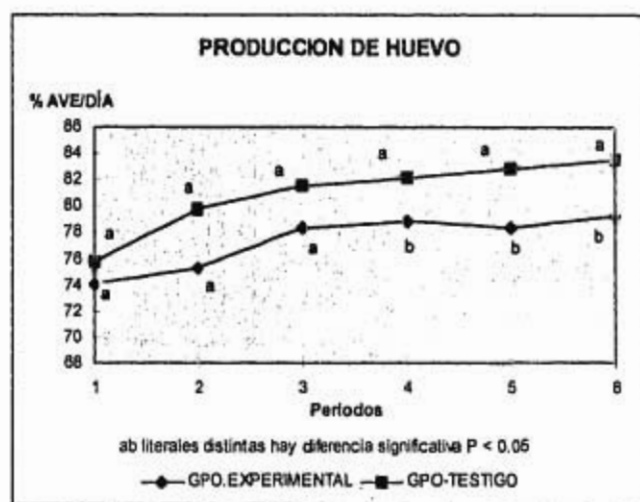
PRODUCCION DE HUEVO ( $X \pm EE$ ) DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO.

Periodo	edad (semanas)	%/ave/día Ortofosfato de Ca sin defluorinar	%/ave/día Ortofosfato de Ca defluorinado
1	30-31	41.1 $\pm$ 2.7	75.8 $\pm$ 2.3
2	32-33	75.3 $\pm$ 1.8	79.7 $\pm$ 1.9
3	34-35	78.3 $\pm$ 1.5	81.5 $\pm$ 1.5
4	36-37	78.8 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>	82.1 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>
5	38-39	78.3 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>	82.8 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>
6	40-41	79.2 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	83.5 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>
	X general	77.3 $\pm$ 0.85 <sup>b</sup>	80.9 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

Este comportamiento de menor producción de huevo por parte del grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar pudiera explicarse por el consumo de alimento presentado (Cuadro 4). Es decir, al tener menor consumo de alimento, la disponibilidad hacia los nutrimentos se ve limitada, lo cual se refleja en la producción de huevo. Sin embargo, es interesante señalar que se ha mencionado (146) que

existe una relación de que a mayor peso de huevo, menor número de piezas producidas. Esto surge como otra posibilidad, ya que si se observa el Cuadro 8, se notará que el peso de huevo obtenido por parte del grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar, fue superior al observado en el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio defluorinado.



**Figura 8.** Producción de huevo de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.

La producción de masa-huevo por ave por día registrada en el estudio, se muestra en el Cuadro 7.

Como se observa, el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar mostró una tendencia de menor producción de masa-huevo en relación a la presentada por

el grupo testigo. Sin embargo, sólomente se encontraron diferencias significativas a partir de las 38 semanas de edad.

#### CUADRO 7

PRODUCCION MASA-HUEVO ( $\bar{X} \pm EE$ ) DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

Periodo	edad (semanas)	g/ave/día Ortofosfato de Ca sin defluorinar	g/ave/día Ortofosfato de Ca defluorinado
1	30-31	37.30 $\pm$ 1.38	37.57 $\pm$ 1.59
2	32-33	39.39 $\pm$ 1.11	41.14 $\pm$ 1.38
3	34-35	41.76 $\pm$ 1.08	42.75 $\pm$ 1.17
4	36-37	42.55 $\pm$ 1.05	43.07 $\pm$ 0.96
5	38-39	41.99 $\pm$ 0.99 <sup>b</sup>	44.07 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup>
6	40-41	42.71 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>	44.52 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>
	$\bar{X}$ general	40.95 $\pm$ 0.88 <sup>b</sup>	42.19 $\pm$ 1.04 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> En medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Si se considera que la producción de masa-huevo por ave por día se obtuvo a partir de multiplicar el peso del huevo por el porcentaje de producción, resulta interesante notar que a pesar de que el peso del huevo obtenido por el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar (ver cuadro 8) fué superior al del grupo con ortofosfato de calcio defluorinado, este último parámetro no influyó de manera significativa para obtener mayor masa-huevo. Este

hecho sugiere que los niveles elevados de flúor presentes en la dieta experimental, tuvieron mayor impacto sobre la producción de huevo mas que sobre el peso de huevo, y ésta es la razón por la cual se registró menor producción de masa-huevo.

### **7.3 CALIDAD DE HUEVO**

#### **7.3.1 PESO DE HUEVO**

El peso de huevo registrado durante el estudio se muestra en el cuadro 8. Como se aprecia, el peso obtenido por el grupo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar fué estadísticamente superior que el observado por el grupo con ortofosfato de calcio defluorinado.

Estos resultados son opuestos a los citados por Guente y Hahn (52) y por Van Toledo y Combs (137). Los primeros autores no observaron diferencia en el peso del huevo cuando las gallinas consumían niveles de 100, 400 y 700 ppm (como flúor sódico); sin embargo, a niveles de 1000 y 1300 ppm observaron que el peso de huevo se afectaba negativamente. Por su parte, los segundos autores, notaron que el peso de huevo era afectado por el flúor dependiendo de la selección genética de la gallina.

Esto es, gallinas seleccionadas por su alta fuerza en cascarón mostraban reducción en el peso de huevo a niveles de 1200 ppm de flúor, mientras que en aquellas aves con baja fuerza en cascarón dicho parámetro no era afectado a esos niveles.

### CUADRO 8

PESO DE HUEVO (  $\bar{X} \pm EE$ ) DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

Periodo	edad (semanas)	Ortofosfato de Ca sin defluorinar (g)	Ortofosfato de Ca defluorinado (g)
1	30-31	53.67 $\pm$ 0.212 <sup>a</sup>	51.44 $\pm$ 0.158 <sup>b</sup>
2	32-33	54.28 $\pm$ 0.212 <sup>a</sup>	52.07 $\pm$ 0.179 <sup>b</sup>
3	34-35	54.57 $\pm$ 0.199 <sup>a</sup>	52.57 $\pm$ 0.212 <sup>b</sup>
4	36-37	54.80 $\pm$ 0.172 <sup>a</sup>	52.86 $\pm$ 0.187 <sup>b</sup>
5	38-39	54.87 $\pm$ 0.153 <sup>a</sup>	53.28 $\pm$ 0.194 <sup>b</sup>
6	40-41	55.10 $\pm$ 0.153 <sup>a</sup>	53.61 $\pm$ 0.201 <sup>b</sup>
	X general	54.55 $\pm$ 0.209 <sup>a</sup>	52.64 $\pm$ 0.325 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> En medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Es interesante señalar que en el caso de la presente investigación, parecería que el peso del cascarón (cuadro 9) no tuvo impacto sobre el peso de huevo, inclusive el peso del grupo con ortofosfato de calcio sin defluorinar fue inferior



al del grupo con ortofosfato de calcio defluorinado. Estos datos sugieren que el incremento en el peso del huevo del grupo experimental pudiera deberse a algún factor interno del huevo.

En este sentido, un estudio (52) mostró que gallinas que consumían elevadas concentraciones de flúor tendían a registrar incrementos en las Unidades Haugh (parámetro que mide la calidad interna del huevo y se correlaciona con el peso de huevo) de una manera lineal, es decir, a mayor concentración de flúor, mayor registro de Unidades Haugh. Aunque en el presente trabajo no se determinaron las Unidades Haugh, los reportes sugieren que posiblemente, los resultados obtenidos en la presente investigación sean debidos a los niveles más elevados de flúor encontrados en la dieta del grupo experimental.

### **7.3.2 PESO DEL CASCARÓN**

El peso del cascarón medido en relación al peso del huevo, se muestra en el Cuadro 9, donde se puede apreciar que las gallinas del grupo con ortofosfato de calcio sin defluorinar mostraron menores pesos que las del grupo con ortofosfato de calcio defluorinado, mostrando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) a partir de las 34 semanas de edad. Estos resultados son similares a los indicados por Guenter y Hahn (52) y por Van Toledo y Combs (137), quienes observaron también que el

peso del cascarón se afectaba de manera negativa ante la presencia de altos niveles de flúor en la dieta.

Existen diversas posibilidades por las cuales el peso del cascarón se pudo haber afectado. Primeramente, al haberse presentado menor consumo de alimento por parte del grupo de gallinas con ortofosfato de calcio sin defluorinar (cuadro 4), el suministro de nutrimentos, y por ende el del calcio, se vió limitado, por lo que la baja disponibilidad hacia éste mineral pudo afectar el peso del cascarón. Inclusive se ha demostrado (24) que con bajos consumos de calcio y altos de flúor la absorción intestinal del calcio se afecta y se incrementa su excreción urinaria. Por otra parte cabe recordar que la formación del cascarón depende del calcio ingerido en la dieta, así como del presente en las reservas óseas (66).

Esto es de suma importancia ya que, un hueso afectado por la presencia elevada de flúor es defectuoso tanto en su estructura como en su grado de mineralización, que conlleva a una reducida solubilidad (145); y con esto la disponibilidad de calcio óseo para la formación del cascarón se ve comprometida. En el caso de la presente investigación, aunque los niveles de flúor de la dieta experimental no estaban a un nivel tóxico, posiblemente fueron lo suficiente para provocar una baja en la deposición de calcio óseo hacia el cascarón.

**CUADRO 9**

PESO DEL CASCARON (  $\bar{X} \pm EE$  ) DE HUEVOS DE GALLINAS CONSUMIENDO  
ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO  
DEFLUORINADO

( g/100 g en relación al peso del huevo)

Periodo	edad (semanas)	Ortofosfato de Ca sin defluorinar	Ortofosfato de Ca defluorinado
1	30-31	9.19 $\pm$ 0.067	9.17 $\pm$ 0.075
2	32-33	9.04 $\pm$ 0.075	9.19 $\pm$ 0.042
3	34-35	9.04 $\pm$ 0.053 <sup>b</sup>	9.21 $\pm$ 0.038 <sup>a</sup>
4	36-37	9.06 $\pm$ 0.053 <sup>b</sup>	9.23 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup>
5	38-39	9.05 $\pm$ 0.047 <sup>b</sup>	9.25 $\pm$ 0.031 <sup>a</sup>
6	40-41	9.04 $\pm$ 0.042 <sup>b</sup>	9.23 $\pm$ 0.031 <sup>a</sup>
	$\bar{X}$ general	9.07 $\pm$ 0.024 <sup>b</sup>	9.21 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> En medias del mismo renglón con diferente literal hay  
diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

**7.3.3 GRAVEDAD ESPECÍFICA**

Como se puede apreciar en el cuadro 10, a lo largo de todo  
el estudio no se detectaron diferencias estadísticamente  
significativas ( $P < 0.05$ ) entre el grupo de gallinas consumiendo  
ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio  
defluorinado en lo que respecta a la gravedad específica.

## CUADRO 10

GRAVEDAD ESPECIFICA DE HUEVOS DE GALLINAS CONSUMIENDO  
ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO  
DEFLUORINADO

Periodo	edad (semanas)	Ortofosfato de Ca sin defluorinar	Ortofosfato de Ca defluorinado
1	30-31	1.0900	1.0881
2	32-33	1.0886	1.0886
3	34-35	1.0882	1.0881
4	36-37	1.0878	1.0879
5	38-39	1.0876	1.0878
6	40-41	1.0873	1.0876
	X general	1.0882	1.0881

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Si se consideran los promedios generales de la gravedad específica en ambos grupos, North (93°), les daría una puntuación de 5, es decir los clasificaría como huevos de buena calidad de cascarón en lo que a su grosor respecta (cuadro 11).

## CUADRO 11

## GRAVEDAD ESPECIFICA DEL HUEVO

Gravedad específica	Calificación
1.068	0 (cascarón más delgado)
1.072	1
1.076	2
1.080	3
1.084	4
1.088	5
1.092	6
1.096	7
1.100	8 (cascarón más grueso)

Toda calificación por encima de 5 indica una buena calidad de cascarón ,North (93 )

Aparentemente estos datos resultan ser contradictorios con los mostrados en el cuadro 9, donde el peso del cascarón fue evaluado mediante su relación con el peso del huevo, y donde se observaron diferencias significativas entre el grupo de gallinas con ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado. Sin embargo, existen algunos puntos a considerar cuando se determina el grosor del cascarón mediante su gravedad específica y su diferencia entre peso de huevo y peso del cascarón. El primer método refleja de una forma indirecta el peso del cascarón en relación al peso total del huevo, mientras que el segundo representa la forma más directa de medir el peso del cascarón (95). La gravedad

específica está predispuesta a mayores errores ya que como Padrón (95) señala, éste método depende de diversos factores que pueden ser determinantes en la lectura de datos. Entre estos factores menciona, a) que las soluciones ya preparadas pueden almacenarse por cierto tiempo, sin embargo cada vez que se vaya a realizar la prueba, hay que verificarlo con un densímetro con el fin de que la gravedad específica siga siendo la misma, b) utilizar sólo huevos frescos, preferentemente del mismo día, pues el tiempo de almacenamiento de los huevos afecta los valores de gravedad específica debido a las variaciones en la pérdida de peso durante el almacenamiento, c) tratar que los huevos a probar tengan aproximadamente la misma temperatura que las soluciones, d) debe existir consistencia al realizar prueba tras prueba, usando las mismas condiciones e incluso la misma persona desarrolle siempre las pruebas y e) se ha observado que el tiempo de ovoposición está relacionado con la gravedad específica y el peso del huevo, los huevos puestos durante la tarde pesan menos y tienen una mayor gravedad específica que huevos puestos durante la mañana.

Asimismo Padrón (95) señala que las únicas desventajas que cuenta el método de porcentaje de cascarón, son que lleva mucho más tiempo para realizarlo, requiere que cada huevo se trabaje en forma individual y es necesaria su destrucción. Finalmente no existen valores establecidos que demuestren los límites de calidad.

En la presente investigación al emplear el método de gravedad específica, desafortunadamente no se contó con un densímetro que pudiera indicar en forma precisa la densidad de las soluciones utilizadas, sino que se adicionó sal a determinado volumen de agua según recomendaciones de la literatura (102). Asimismo debido a la gran cantidad de trabajo, en ocasiones no fue posible determinar la gravedad específica de los huevos en el mismo día de su ovoposición, por lo que algunas determinaciones se realizaron hasta dos días posteriores a la misma.

#### **7.4 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS**

##### **7.4.1 FOSFATASA ALCALINA**

El cuadro 12 resume los datos obtenidos de las lecturas de Fosfatasa Alcalina (Falc) registradas en el estudio. Como se puede apreciar, sólomente el factor edad mostró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), mientras que el factor dieta y hora no mostraron diferencia alguna.

Si se observan los promedios para cada factor, así como el general en ambos grupos, destaca el hecho de que a pesar de no encontrarse diferencias significativas en algunos de ellos, el grupo de gallinas que recibieron ortofosfato de calcio sin defluorinar presentó una tendencia a registrar lecturas ligeramente superiores a las observadas por las aves del grupo testigo. Esto está de acuerdo con lo mencionado por algunos

**CUADRO 12.** Actividad de la Falc(U/L)(mostrados en expresión logaritmica) en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de Ca sin de fluorinar (gpo. experimental) y ortofosfato de Ca defluorinado (gpo testigo)

GRUPO	edad (semanas)	horas posovoposición						X general
		2.5	4.5	6.5	9.5	15.5	22.5	
Experimental	30	2.551	2.922	3.027	2.870	2.634	2.621	2.770 AB
	33	2.878	2.839	2.546	3.012	2.628	2.894	2.799 AB
	35	2.869	3.008	2.662	2.835	2.681	2.837	2.815 AB
	39	2.664	2.842	2.671	2.866	2.945	2.801	2.798 AB
	41	2.688	2.670	2.566	2.699	2.764	2.802	2.698 B
	x	2.730 a	2.856 a	2.694 a	2.856 a	2.730 a	2.790 a	2.776 ++
Testigo	30	2.946	2.813	2.997	2.870	2.803	2.946	2.895 A
	33	2.856	2.786	2.561	3.018	2.749	2.805	2.795 AB
	35	2.706	2.559	2.665	2.733	2.638	2.699	2.666 B
	39	2.808	2.576	2.630	2.837	2.435	2.748	2.672 B
	41	2.678	2.696	2.415	2.828	2.857	2.811	2.714 B
	x	2.798 a	2.686 a	2.853 a	2.857 a	2.696 a	2.801 a	2.748 ++
	X general	2.764	2.771	2.673	2.856	2.713	2.795	

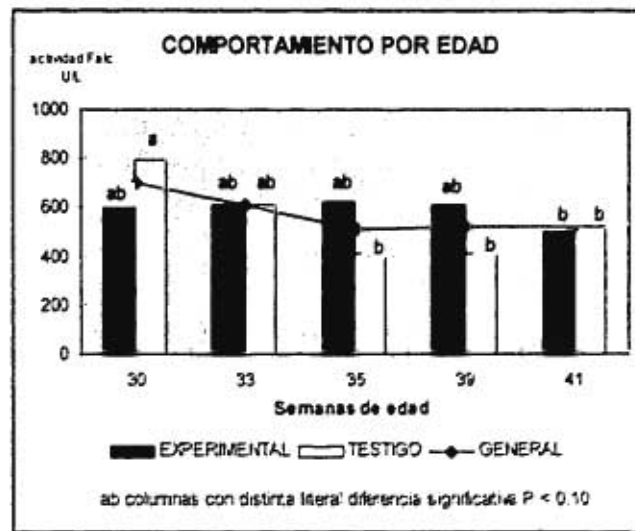
++ no se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

AB medias con distinta literal en renglones hay diferencia significativa ( $P < 0.10$ ).



autores como Underwood (135) y Rao (103), quienes señalan que el flúor ingerido a elevadas concentraciones estimulan la actividad osteoblástica y por ende, las lecturas de la Falc serán mayores.

Con respecto a la actividad de la Falc influenciada por la edad, la figura 9 muestra el comportamiento de dicha enzima durante todo el estudio. Las gallinas del grupo testigo mostraron una tendencia descendiente en la actividad enzimática, es decir, conforme se incrementaba la edad, la actividad de la Falc disminuía. Mientras que el grupo experimental mostró una tendencia opuesta, es decir, los niveles fueron crecientes, como se muestran principalmente en los primeros cuatro periodos.



**Figura 9.** Comportamiento de la fosfatasa alcalina por edad en el grupo experimental y testigo.

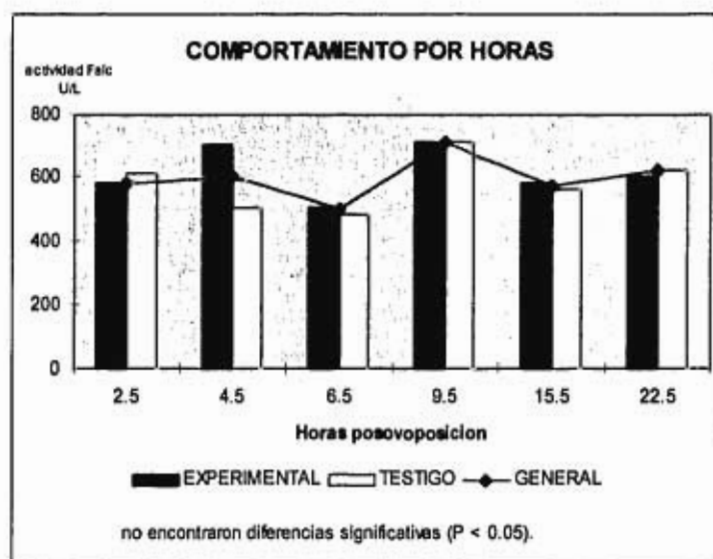
Hablando en términos de metabolismo óseo, Hurwitz y Bar (66) señalan que una gallina en estadio temprano de producción posee una limitada reserva mineral ósea y conforme pasa el tiempo el contenido cálcico óseo se va incrementando para utilizarse en procesos de calcificación posteriores. Esto posiblemente explique el comportamiento de la Falc en el grupo testigo. Cabe señalar que desafortunadamente no se contó con datos ni fechas de inicio de postura, pero si se considera que una gallina comienza a acumular calcio en sus huesos aproximadamente 10 días antes de iniciar postura (alrededor de las 17 semanas de edad) (114), este proceso de almacenamiento continua hasta probablemente las 30 semanas de edad. A partir de esta edad, sus reservas cálcicas comienza a utilizarse en procesos de calcificación. Muestra de lo anteriormente mencionado son los niveles de Falc sérica observados, ya que dichos niveles siguieron un patrón descendente, señalando menor actividad osteoblástica conforme se incrementaba la edad, y mayor actividad osteoclástica. Aunado a esto, resulta interesante el trabajo realizado por Carrillo y colaboradores (22), donde mostraron que, a pesar de no encontrarse diferencias significativas, la actividad de la Fosfatasa Acida (Fac) (antagónista de la Falc) en gallinas en producción ascendía conforme se incrementaba la edad. Todo esto indica que en condiciones normales, al aumentar la edad de la gallina, la actividad osteoblástica disminuye, mientras que la actividad osteoclástica va en aumento.

En el caso de las gallinas que recibieron ortofosfato de calcio sin defluorinar, probablemente en sus etapas iniciales de acumulación cálcica ósea y de producción, se siguió el mismo patrón que las aves del grupo testigo hasta las 30 semanas de edad. Sin embargo, en las etapas posteriores la actividad de la Falc siguió un patrón diferente, es decir, en este caso se observó una actividad de la Falc más sostenida sin seguir una tendencia descendente, indicando mayor actividad osteoblástica que la mostrada por el grupo testigo. Esto sugiere que el flúor puede tener un efecto estimulante sobre la actividad osteoblástica, y por ende, las lecturas en suero fueron mayores. Esta observación estaría de acuerdo con lo reportado por Underwood (135) y Rao (103).

Con respecto a la actividad de la Falc influenciada por el factor hora, la figura 10 muestra el comportamiento general de la enzima en ambos grupos durante el estudio. Se encontró una actividad cíclica de la Falc durante las diferentes horas de muestreo. Esto es similar a los mencionado por Taylor (131), Paul y Snetsinger (97) y por Etches (42).

Cabe mencionar que no se encontraron diferencias significativas entre el grupo experimental y el grupo testigo, por lo que el comportamiento de la Falc en ambos grupos fué en general muy similar. Al igual que lo reportado por Paul y Snetsinger (97), los mayores picos alcanzados por la Falc fueron a las 9-9.5 horas posovoposición, posteriormente estos

niveles caen hasta elevarse nuevamente antes de la siguiente ovoposición.



**Figura 10.** Comportamiento de la fosfatasa alcalina por horas en el grupo experimental y testigo.

Considerando que la fase activa de calcificación del cascarón comienza alrededor de las 10 horas posovoposición (71), la formación del hueso medular continúa durante éste periodo, como lo evidencian los niveles a las 9.5 horas posovoposición. Tan pronto como el huevo entra a la fase activa de calcificación, el calcio plasmático es drenado en una mayor proporción por la glándula calcárea. Y para mantener un nivel normal de calcio plasmático, la formación del hueso medular se detiene y su degradación se evidencia a partir de

la reducción en los niveles de Falc a las 15.5 horas posovoposición. Este comportamiento es similar a lo reportado por Etches (42), quien señala que en períodos de baja o nula actividad de calcificación, los niveles de Falc son mayores; en cambio en períodos activos de calcificación, éstos niveles caen mientras los de la fosfatasa ácida se incrementan.

En el caso del presente estudio, parece ser que el efecto que ejerció el flúor sobre los niveles de Falc en el grupo experimental fue mínimo con respecto al factor hora de toma de muestra. Esto posiblemente se explique por el hecho de que las aves se consideran relativamente tolerantes a altas concentraciones de flúor presentes en la dieta (135). Sin embargo, se sabe que el flúor ejerce un efecto acumulativo en tejido óseo (141), por lo que es de esperarse que sus efectos van a ser más notorios a un largo que a un corto plazo, como lo sugieren los resultados obtenidos con el factor edad y hora de muestreo respectivamente.

#### **7.4.2 25-HIDROXIVITAMINA D3 Y 1,25-DIHIIDROXIVITAMINA D3**

Los cuadros 13 y 14 presentan los resultados de las lecturas obtenidas de la 25-hidroxitamina D3 (25(OH)D3) y 1,25-dihidroxitamina presentaron diferencias significativas

**Cuadro 13**

Actividad de la 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub>(25(OH)D<sub>3</sub>) en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de Ca sin defluorinar /grupo experimental) y ortofosfato de calcio defluorinado (grupo testigo).

pg/ml  
EDAD (SEMANAS)

GRUPO	30	33	35	41	PROMEDIO
Experimental	28.3 + 2.33 A	21.8 + 1.70 AB	21.1 + 0.28 AB	16.75 + 1.48 B	21.987 a
Testigo	17.8 + 1.51 B	20.4 + 1.73 AB	20.9 + 1.06 AB	19.15 + 2.68 B	19.652 a
Promedio	23.050 a	21.00 a	21.00 a	17.95 a	

En medias con distinta literal mayuscula hay diferencia significativa (P<0.05)

En medias con distinta literal minuscula hay diferencia significativa (P<0.05)

**Cuadro 14**

Actividad de la 1,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub>(1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de Ca sin defluorinar (grupo experimental) y ortofosfato de calcio defluorinado (grupo testigo).

pg/ml  
EDAD (SEMANAS)

GRUPO	30	33	35	41	PROMEDIO
Experimental	138.8 + 12.723	141.42 + 11.64	125.8 + 2.85	128.12 + 7.06	133.53 A
Testigo	149.8 + 15.22	107.8 + 5.01	106.3 + 4.20	95.8 + 6.30	114.92 B
Promedio	144.30 a	124.61 ab	116.05 b	111.96 b	

En medias con distinta literal mayuscula hay diferencia significativa (P<0.05)

En medias con distinta literal minuscula hay diferencia significativa (P<0.05)

entre el grupo experimental y el testigo, el primero de ellos mostró una ligera tendencia a registrar mayores lecturas.

El comportamiento de la 1,25(OH)2D3 mostrado por el grupo D3 (1,25(OH)2D3) respectivamente. Como se puede apreciar en dichos cuadros, sólomente se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con el metabolito 1,25(OH)2D3, siendo en este caso el grupo de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar el que mostró lecturas superiores. Y en el caso del 25(OH)D3, aunque no se experimental sugiere de alguna manera que la síntesis de éste metabolito se encontraba estimulada. En este aspecto es importante recordar que bajos niveles plasmáticos tanto de calcio como de fósforo (figuras 5 y 6) incrementan la síntesis de 1,25(OH)2D3 y éstos niveles a la vez están influenciados por el contenido de dichos minerales en la dieta (108). Sin embargo, si se observan los cuadros 3 y 4, se notará que los contenidos de calcio y fósforo empleados en las dietas tanto experimental como testigo, se encontraban dentro de los límites recomendados por el NRC (88) para gallinas en producción, por lo que se sugiere que primeramente al estar afectado el consumo de alimento (cuadro 4) existió una baja disponibilidad de calcio, con lo cual se pudo haber estimulado la síntesis de 1,25(OH)2D3 Otra posibilidad que pudiera provocar un incremento en la síntesis de éste metabolito es que el flúor pudo haber actuado sobre el calcio y/o fósforo interfiriendo sus concentraciones en el plasma. En este sentido, el calcio parece ser el mineral más

comprometido ya que se ha demostrado(24) que: a) el flúor afecta la absorción de calcio en el intestino, mientras que no se ha observado efecto alguno sobre la del fósforo (84), b) el flúor al ser incorporado a la estructura ósea, forma el complejo fluorapatita, el cual presenta una reducida solubilidad por lo que es más resistente a la disolución mineral (75). Asimismo, resulta de gran interés el trabajo realizado por Somerville et al (121) quienes compararon los efectos de la deficiencia de calcio y fósforo sobre el metabolismo de la 25(OH)D3 en pollos.

Sus resultados mostraron que la producción renal in vitro de 25(OH)2D3 a 1,25(OH)2D3 se incrementaba mayormente en dietas deficientes en calcio, sugiriendo el hecho de que la adaptación a dietas bajas en fósforo depende mas de la habilidad de la mucosa intestinal para acumular 1,25(OH)2D3 que de un incremento en la producción renal del 25(OH)D3. Estos mismos resultados confirmaron otros estudios realizados por Bar y Wasserman (139), Bar y Hurwitz (10), y por Ribovich y DeLuca (106), quienes observaron que sobrepasando la hidroxilación de la 25(OH)D3 en riñón mediante el consumo directo de 1,25(OH)2D3 se suprimía la respuesta adaptativa a bajos consumos de calcio, pero no de fósforo.

En el caso de la presente investigación, aunque el grupo experimental no mostró diferencias significativas en sus lecturas de 25(OH)D3 sobre el testigo, éstas presentaron una



tendencia superior en el primer grupo, indicando que la respuesta adaptativa del ave fue a bajos niveles de calcio, más que a los de fósforo. Con lo anteriormente planteado, se puede sugerir que el ión flúor interfirió en cierta manera sobre los niveles de calcio sérico, lo que condujo a incrementar la síntesis de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  como una manera de adecuar los niveles de calcio circulantes a una demanda presente.

Con respecto al comportamiento descendente asociado con la edad, tanto de la  $25(\text{OH})_2\text{D}_3$  como de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  mostrado en ambos grupos, algunos investigadores postulan diversas hipótesis que Abe et al (01) las resume en tres principales. Primero, la biosíntesis de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  se afecta con la edad, la cual está relacionada con la actividad gonadal; segundo, la capacidad de unión de la proteína receptora para la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en intestino y hueso se considera estar afectada con la edad; y tercero, la tasa de degradación de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  puede ser acelerada con la edad.

#### **7.5 ANÁLISIS DEL CONTENIDO MINERAL ÓSEO**

Los resultados obtenidos del contenido mineral óseo de cenizas se presentan en el cuadro 15.

## CUADRO 15

CONTENIDO DE CENIZAS (  $\bar{X} \pm EE$  ) EN HUESO DE GALLINAS  
 CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y  
 ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO.

Grupo	Hueso (g/100 g)			Promedio
	Femur	Húmero	Tibia	
Ortofos. sin defluorinar	47.04 $\pm$ 0.78	42.43 $\pm$ 0.74	43.93 $\pm$ 0.70	44.47 <sup>a</sup>
Ortofosfato defluorinado	45.97 $\pm$ 0.65	43.54 $\pm$ 0.59	44.67 $\pm$ 0.54	44.73 <sup>a</sup>
Promedio	46.51 <sup>a</sup>	42.99 <sup>c</sup>	44.30 <sup>b</sup>	

<sup>abc</sup> en medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

<sup>ab</sup> en medias de la misma columna con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Como se puede apreciar en el cuadro 15, el contenido de cenizas no mostró diferencias significativas entre el grupo de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y el grupo recibiendo ortofosfato de calcio defluorinado. Estos resultados son similares a los reportados por Merkley (83). Sin embargo, cabe señalar que este investigador no encontró diferencias significativas en el porcentaje de cenizas óseas en gallinas de 25 a 45 semanas de edad que recibían altas concentraciones de flúor en la dieta, pero en el caso de

gallinas de 0 a 25 semanas de edad, sí pudo detectar diferencias significativas. Respecto a este comportamiento, el autor señala que después de las 25 semanas de edad, el estado fisiológico del hueso del ave se encuentra ya establecido como para sufrir efecto alguno. Posiblemente esto último explique el comportamiento observado en la presente investigación.

El efecto que tiene el flúor sobre el contenido de cenizas óseas resulta ser una controversia, ya que mientras algunos autores como Smith (115) observaron que el flúor redujo su contenido, otros como Hauck et al (59) reportan el efecto contrario. Respecto a este último efecto, Combs y Van Toledo (28) indicaron que la actividad osteoblástica en hueso de gallinas tratadas con flúor, se encontraba marcadamente reducida y por lo tanto la densidad ósea estaba incrementada. Sin embargo, sea ésto la causa del aumento en el contenido de cenizas en hueso, si se observan los resultados obtenidos en la presente investigación de la actividad de la fosfatasa alcalina (opuesta a una actividad osteoclástica) (cuadro 11) no sugieren que los niveles de flúor presentes en la dieta experimental pudieran tener algún efecto de incremento en el contenido óseo de cenizas.

Es importante señalar que algunos trabajos (108) mencionan que el contenido de calcio en la dieta ejerce cierta influencia directa sobre el contenido de cenizas en hueso, es decir, a mayor contenido de calcio, mayor contenido de cenizas

en hueso. Y por otra parte, otros reportes (24) señalan que el flúor puede interferir con la absorción de calcio a nivel del tracto gastrointestinal. Por lo que, los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren que los niveles de flúor presentes en la dieta experimental no ejercieron efecto alguno sobre la absorción de calcio y por ende, las cenizas óseas no se vieron afectadas.

Observando nuevamente el cuadro 14, cabe destacar que por tipo de hueso, el contenido de cenizas sí mostró diferencia significativas ( $P < 0.05$ ), siendo el fémur el hueso que registró mayor concentración, seguido por la tibia y el fémur. Este comportamiento posiblemente se explique por el hecho de que tanto el fémur como la tibia son considerados huesos con habilidad intermedia para proveer calcio para la formación del cascarón (107), lo que indicaría que dichos huesos poseen una mayor actividad metabólica mineral con respecto al húmero.

En el cuadro 16 se observa que con respecto al contenido de flúor en hueso, se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre el grupo experimental y el grupo testigo, siendo el primero de ellos el que registró las mayores lecturas. Estos resultados son similares a los citados por Van Toledo y Combs (137), Michel et al (84), Merkley (83) y Combs y Van Toledo (28).

Es importante señalar que el flúor estuvo presente en ambas fuentes de fósforo utilizadas (Cuadro 3) por lo que su presencia pudo ser detectada en todos los huesos analizados. Sin embargo, la diferencia radicó en la concentración presente en dichas fuentes, y por ende en las respectivas dietas, lo cual se reflejó en las lecturas óseas obtenidas en ambos grupos.

**CUADRO 16**

CONTENIDO DE FLUOR ( $\bar{X} \pm EE$ ) EN HUESO DE GALLINAS CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

Grupo	Hueso (g/100 g)			Promedio
	Femur	Húmero	Tibia	
Ortofos. sin defluorinar	2.06 ± 0.21	1.75 ± 0.05	2.03 ± 2.29	1.954 <sup>a</sup>
Ortofosfato defluorinado	1.31 ± 0.05	1.49 ± 0.07	1.32 ± 0.07	1.377 <sup>b</sup>
Promedio	1.690 <sup>a</sup>	1.626 <sup>a</sup>	1.681 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> en medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa (P<0.05).

<sup>ab</sup> en medias de la misma columna con diferente literal hay diferencia significativa (P<0.05).

Si se observa el contenido de flúor registrado en fémur, tibia y húmero del grupo de gallinas con ortofosfato de calcio sin defluorinar, resulta de interés señalar que tal concentración siguió un patrón muy similar al observado en el contenido de cenizas. Es decir, los dos primeros tipos de hueso mostraron mayor afinidad hacia el flúor, mientras que el húmero registró la menor. Si de alguna manera se cuantificara el porcentaje de incremento en la concentración de flúor para cada hueso, los valores fluctuarían en 57.8, 53.73 y 17.3 % respectivamente. Este comportamiento posiblemente se explique, al igual que con las cenizas, por los diferentes grados de intensidad del metabolismo mineral en dichos huesos.

El cuadro 17 muestra los resultados obtenidos del contenido de fósforo en los huesos de gallinas tanto del grupo con ortofosfato de calcio defluorinado como sin defluorinar. Como se aprecia en dicho cuadro, los promedios generales de ambos grupos sí mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), siendo el grupo de gallinas con ortofosfato de calcio sin defluorinar quien registró el mayor valor.

Resulta de interés señalar que Michel et al (84) mencionan que no existe evidencia significativa de una interacción entre el fósforo y el flúor, excepto que estos dos elementos se encuentran en fuentes comunes. Y que si bien las fuentes de fósforo deben llenar una norma de flúor, no es por algún efecto de éste sobre el fósforo, ya que no se han

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

demostrado alteraciones directas de éste mineral sobre el metabolismo del fósforo como absorción, biodisponibilidad o eliminación, y menos aún sobre sus funciones químicas y biológicas.

#### CUADRO 17

CONTENIDO DE FOSFORO ( $X \pm EE$ ) EN HUESO DE GALLINAS  
CONSUMIENDO ORTOFOSFATO DE CALCIO SIN DEFLUORINAR Y  
ORTOFOSFATO DE CALCIO DEFLUORINADO

Grupo	Hueso (mg/100 g)			Promedio
	Femur	Húmero	Tibia	
Ortofos. sin defluorinar	832.8 $\pm$ 139.5	1022.7 $\pm$ 169.1	938.5 $\pm$ 160.9	931.3 A
Ortofosfato defluorinado	1132.8 $\pm$ 171.5	704.1 $\pm$ 144.9	910.0 $\pm$ 137.8	914.6 B
Promedio	982.857 <sup>a</sup>	861.928 <sup>a</sup>	924.285 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> En medias del mismo renglón con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

<sup>ab</sup> En medias de la misma columna con diferente literal hay diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

Por otra parte, resultados similares a la presente investigación fueron reportados por Per-Ake et al (98) en perros. Estos autores observaron que al incrementarse los niveles de flúor en la dieta, la concentración de calcio en

las cenizas óseas disminuía ligeramente y la del fósforo se incrementaba significativamente. Sin embargo, dichos investigadores no pudieron ofrecer explicación alguna hacia este comportamiento, ya que los cambios en la composición de las cenizas observadas en su estudio no habían sido reportadas con anterioridad. Pero concluyen que el incremento progresivo en el contenido de fósforo en las cenizas con el incremento en el flúor dietético debe considerarse como otro efecto negativo del flúor.

Si bien resulta de controversia los posibles efectos que pudiera tener el flúor sobre el fósforo, una posible explicación que se pudiera ofrecer al comportamiento observado en la presente investigación sería que el flúor al incorporarse al tejido óseo disminuyó la solubilidad mineral de dicho tejido, resultando en una mayor concentración de fósforo en hueso. Lo anteriormente mencionado se fundamenta en el hecho de que se ha reportado (75) que uno de los efectos que tiene el flúor sobre el metabolismo del tejido óseo es la reducción de la solubilidad mineral de los diferentes componentes que constituyen al hueso.



### VIII CONCLUSIONES

**8.1** La inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en la dieta redujo el consumo de alimento en gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.2** El peso corporal no se vió afectado por la inclusión del ortofosfato de calcio sin defluorinar en la dieta para gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.3** La inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en la dieta disminuyó tanto la producción de huevo como la producción de masa-huevo en gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.4** El efecto de la inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar sobre la calidad de cascarón mostró el siguiente comportamiento, el peso de huevo se incrementó, el peso del cascarón disminuyó mientras que la gravedad específica no sufrió efecto alguno.

**8.5** La actividad de la Fosfatasa Alcalina en suero no se vió afectada por la inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.6** La inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en dieta para gallinas de 30 a 41 semanas de edad no mostró efecto alguno sobre los niveles séricos de la 25-hidroxivitamina D3.

**8.7** Los niveles séricos de la 1,25-dihidroxivitamina D3 fueron superiores en las gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.8** Tanto el contenido óseo de cenizas como de fósforo no se vieron afectados por la inclusión de ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo en la dieta para gallinas de 30 a 41 semanas de edad.

**8.9** El contenido óseo de flúor en gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar como fuente de fósforo resultó ser superior que el de las gallinas que recibieron ortofosfato de calcio defluorinado como fuente de fósforo en la dieta.

## IX. RECOMENDACIONES

9.1 Debido a que el origen del flúor utilizado en el presente estudio es considerado de menor toxicidad que otras fuentes (183 ppm) se recomienda realizar más estudios con suplementos de mayor toxicidad que permitan obtener un conocimiento mayor del efecto del flúor sobre el metabolismo óseo de la gallina.

9.2 El metabolismo óseo no es el único afectado por niveles elevados de flúor, sino que existen otros que también pueden verse dañados, por lo que se recomienda realizar estudios que involucren otros metabolismos.

9.3 Debido a que cada día la tecnología en el procesamiento de las fuentes de Fósforo va avanzando, se recomienda realizar un estudio que permita conocer la situación actual, en lo que a flúor respecta, de las fuentes disponibles en el mercado.

9.4 Debido a que en la presente investigación se emplearon grupos pequeños de gallinas, si se desea conocer con mayor precisión los efectos del flúor sobre el metabolismo óseo de la gallina, se recomienda realizar otros estudios que involucren grupos con mayor número de animales.

**X. LITERATURA CITADA**

1. Abe, E., Horikawa, H., Masumura, T., Sugahara, M., Kubota, M. and Suda, T.: Disorders of cholecalciferol metabolism in old egg-laying hens. J Nutr., 112: 436-446 (1982).
2. Allen, L.: Calcium bioavailability and absorption: a review. Amer. J. Clin. Nutr., 35: 783-808 (1982).
3. Antillón, A., Scott, M., Krook, L. and Wasserman, R.: Metabolic response of laying hens to different dietary levels of calcium, phosphorus and vitamin D3. Cornell Vet., 67 (3): 413-443 (1977).
4. Arnaud, D.C.: Hormonal Regulation of Calcium Homeostasis. In: Assay of Calcium-Regulating Hormones. Edited by Bikle, D.D. Springer-Verlag, USA (1983).
5. Association of Official Agricultural Chemists: Official Methods of Analysis. 14 th. edition. A.O.A.C., Virginia (1984). Met. 2.019:11.
6. Aurbach, G.D. and Chase, L.R.: Cyclic Nucleotides and Biochemical Actions of Parathyroid Hormone and Calcitonin. In: Handbook of Physiology Endocrinology. Edited by Greep, R.O. and Astwood, E.B. Am. Physiol. Soc., Washington (1976). Citado por Habener (56).
7. Avila, E.: Biodisponibilidad del fósforo en fuentes inorgánicas para aves. Memorias del 1er Simposio "El Fósforo en la Nutrición Animal". UNAM-SARH-IP (1988).
8. Baimbridge, K. and Taylor, T.: Comp. Biochem. Physiol., 68A: 647-651 (1981). Citado por Taylor (129).
9. Baksi, S. and Kenny, A.: Vitamin D3 metabolism in immature Japanese quail: effects of ovarian hormones. Endocrinology, 101: 1216-1220 (1977).
10. Bar, A. and Hurwitz, S.: Vitamin D metabolism and calbindin (calcium-binding protein) in aged laying hens. J. Nutr., 117: 1775-1779 (1987).
11. Bar, A. and Norman, A.: Studies on the mode of action of calciferol. XXXIV. Relationship of the distribution of 25-hydroxyvitamin D3 metabolites to gonadal activity and

eggshell formation in the quail. Endocrinology, 109: 950-955 (1981).

12. Bar, A. and Wasserman, R., Biochem Biophys Res Comm, 54: 191-196 (1973).

13. Behar, J. and Kerstein, M.: Intestinal calcium absorption: differences in transport between duodenum and ileum. Amer.J.Physiol., 230: 1255-1260 (1976).

14. Belsey, R., DeLuca, H. and Pottes, J.: Selective binding properties of vitamin D transport protein in chick plasma *in vitro*. Nature, 247: 208-209 (1974).

15. Borle, B.: Calcium and phosphate metabolism. Annu.Rev. of Physiol., 36: 361-390 (1974).

16. Bronner, F.: Intestinal calcium absorption: mechanism and applications. J.Nutr., 117: 1347-1352 (1987).

17. Brown, E., Gardner, D.G., Windeck, R. and Aurbach, G.: Relationship of intracellular 3'5'-adenosine monophosphate accumulation to parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells. Endocrinology, 103: 2323-2333 (1978).

18. Bushinsky, D., Brandt, C. and Favus, M.: Elevated Ca<sup>++</sup> does not inhibit the 1,25(OH)2D3 responses to phosphorus restriction. Amer.J.Physiol., 256: F285-F289 (1989).

19. Care, A.D. and Bates, R., Gen.Comp.Endocri., Suppl.3, 448-458 (1972). Citado por Clark (27).

20. Care, A.D., Bates, R. and Gitelman, H., J.Endocrinol., 43: 1V-1V1 (Abstr.) (1969). Citados por Clark (27).

21. Care, A., Bruce, J., Boelkins, J., Kenny, A., Conaway, H. and Anast, C., Endocrinology, 89: 262-271 (1971). Citador por Clark (27).

22. Carrillo, S., Audiffred, M., Ramos, F., Sánchezzarmas, R. y Pérez-Gil, F.: Variaciones séricas en los niveles de fosfatasa ácida de gallinas en producción. VI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. (AMENA) 27-30 Octubre de 1993. Acapulco, Guerrero.

23. Castillo, L., Tanaka, M., Wineland, J., Jowsey, J. and DeLuca, H.: Production of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and

formation of medullary bone in the egg-laying hen. Endocrinology, 104 (6): 1598-1601 (1979).

24. Chang, Y., Pan, M. and Varnell, T.: The effect of fluoride on calcium absorption in rats. Nutr Rep Int., 16 (5) 539-547 (1977).

25. Chase, L. and Aurbach, G.: Parathyroid function of renal excretion of 3'5'-adenylic acid. Proc.Natl.Acad.Sci., 58: 518-525 (1977).

26. Chen, P. and Bosman, H., J.Nutr., 83: 133-139 (1964). Citados por Taylor y Dacke (129).

27. Clark, N.: Time, Targets and Triggers: a Study of Calcium Regulation in the Bird. In: Avian Endocrinology. Edited by: Epple, A. and Stetson, M. Academic Press, USA (1980).

28. Combs, G. and Van Toledo, B.: Fluorosis in the laying hen. Proc.Cornell Nutr.Conf for Feed Manufactures, 91-93 (1980).

29. Cooper, C., Schwesinger, W., Mahgaoub, M. and Ontjes, D.: Science NY, 72: 1238-1240 (1971). Citador por Taylor (129).

30. Copp, D.: Endocrine regulation of calcium metabolism. Annu.Rev. of Physiol., 32: 61-86 (1970).

31. Copp, D., Davidson, A. and Cheney, B.: Evidence for a new parathyroid hormone which lowers blood calcium. Proc.Can.Fed.Biol.Soc., 4: 17 (1961).

32. Dacke, C.: Calcium Regulation in Submammalian Vertebrates. Academic Press, London (1979). Citado por Taylor (129).

33. Dale, N.: Evaluación de fosfatos inorgánicos. Avicultura Profesional, 10: 92-93 (1992).

34. Danilova, A., Legeza, V. and Shpits, I.: Effect of varying light regimens and calcium nutrition on survival and mineral metabolism in hens. In: Nutrition Abstracts and Reviews, November (1987).

35. DeLuca, H.: The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. Fed.Am.Soc.Exp.Biol.J., 2: 224-236 (1988).

36. DeLuca, H.: The vitamin D system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism. Nutr.Rev., 37 (6): 161-193 (1979).
37. DeLuca, H.: Calcium metabolism. Acta Orthop. Scand., 46: 286-314 (1975).
38. Desplan, C., Heidman, O., Lillie, J., Auffray, C. and Thomasset, M.: Sequence of rat intestinal vitamin D-dependent calcium-binding protein derived from a cDNA clone. Evolutionary implications. J.Biol.Chem., 258: 13502-13505 (1983).
39. Dohok, S., Donaldson, C. and Haussler, M.: Influence of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on cultured osteogenic sarcoma cells: correlation with the 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors. Cancer Res., 44: 2103-2109 (1984).
40. Edmon, C.R.: Direct determination of fluor from phosphate rock samples using specific electrode ion. Anal. Chem., 41 (10): 1327-1328 (1969).
41. Emtage, J., Lawson, D. and Kodicek, E.: Vitamin D induced synthesis of RNA for calcium-binding protein. Nature (Lond.), 246: 100-101 (1973).
42. Etches, J.: Calcium logistics in the laying hen. J.Nutr., 117: 619-628 (1987).
43. Farmer, M., Roland, D. and Clark, A.: Influence of dietary calcium on bone utilization. Poultry Sci., 65: 337-344 (1986).
44. Farmer, M., Roland, D. and Eckman, M.: Calcium metabolism in broiler breeder hen. 2. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and eggshell quality in broiler breeders. Poultry Sci., 62: 465-471 (1983).
45. Fraser, D. and Kodicek, E.: Regulation of 25-dihydroxycholecalciferol 1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone. Nature (Lond.) New Biol., 241: 163-166 (1973).
46. Frost, T. and Roland, D.: Effects of various dietary phosphorus levels on plasma 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ionized and total calcium and phosphorus in commercial Leghorns. Poultry Sci., 70: 160 (1991) (Abstr.).

47. Frost, T., Roland, D. and Untawale, G.: Influence of vitamin D<sub>3</sub>, 1-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on eggshell quality, tibia strength and various production parameters in commercial laying hens. Poultry Sci., 69: 2008-2016 (1990).
48. Fucik, R., Kukreja, S., Hargis, G., Bowser, E., Henderson, E. and Williams, G.: Effect of glucocorticoids on function of parathyroid glands in man. J.Clin.Endocrinol.Metab., 40: 152-155 (1975).
49. Garabedian, M., Holick, M., DeLuca, H. and Boyle, I.: Control of 25-dihydroxycholecalciferon metabolism by parathyroid glands. Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 69: 1673-1676 (1972).
50. Garabedian, M., Tanaka, Y., Holick, M. and DeLuca, H.: Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in thyroparathyroidectomized rats. Endocrinology, 94: 1022-1027 (1974).
51. Gilbert, A.: The Endocrine Ovary in Reproduction. In: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. Edited by Bell, D. and Freeman, B., Academic Press, London (1971).
52. Guenter, W. and Hahn, B.: Fluorine toxicity and layin hen performance. Poultry Sci., 65: 769-778 (1986).
53. Guinotte, F. and Nys, Y.: Effects of particle size and origin of calcium sources on eggshell quality and bone mineralization in egg laying hens. Poultry Sci., 70: 583-592 (1991).
54. Guyton, A.: Tratado de Fisiología médica. 6a edición. Interamericana. México (1984).
55. Habener, J. and Potts, J.: Relative effectiveness of magnesium and calcium on the secretion and biosynthesis of parathyroid hormone in vitro. Endocrinology, 98: 197-202 (1976).
56. Habener, J., Rosenblatt, M. and Potts, J.: Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action and metabolism. Physiol. Rev., 64 (3) : 985-1053 (1984).



57. Halloran, B. and Spencer, E.: Dietary phosphorus and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism: influence of insulin-like growth Factor I. Endocrinology, 123 : 1225-1229 (1988).
58. Harmuth-Hoene, A. and Schelenz, R.: Effect of dietary fiber on mineral absorption in growing rats. J.Nutr., 110 : 1774-1784 (1980).
59. Hauck, M., Steenbrook, J., Lowe, T. and Halpin, J.: Effects of fluorine on growth, calcification and parathyroids in the chicken. Poultry Sci., 12: 242-249 (1933). citados por Van Toledo y Combs (137).
60. Henry, H. and Norman, A.: Vitamin D: metabolism and biological actions. Annu.Rev.Nutr., 4 : 493-520 (1984).
61. Hollis, W. and Napoli, J.: Improves radioimmunoassay for Vitamin D and its use in assessing vitamin D status. Clin.Chem., 31 (11): 1815 (1985).
62. Hosomi, J., Hosoi, J., Abe, E., Suda, T. and Kuroki, T.: Regulation of terminal differentiation of culture mouse epidermal cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3. Endocrinology, 113 : 1950-1957 (1983).
63. Hughes, M., Brumbaugh, P. and Haulser, M.: Regulation of serum 1,25-dihydroxyvitamin D3 by calcium and phosphate in rats. Science, 190 : 578-580 (1975).
64. Hurwitz, S.: Calcium turnover in different bone segments of laying fowl. Am.J.Physiol., 208: 203-207 (1965).
65. Hurwitz, S. and Bar, A.: The absorption of calcium and phosphorus along the gastrointestinal tract of laying fowl as influenced by dietary calcium and eggshell formation. J.Nutr., 86 : 433 (1965).
66. Hurwitz, S. and Bar, A.: Calcium reserves in bone of laying hens: their presence and utilization. Poultry Sci., 48 : 1391-1396 (1969).
67. Hurwitz, S. and Bar, A.: Intestinal calcium absorption in the laying fowl and its importance in calcium homeostasis. Am.J.Clin.Nutr., 22 (4) : 391-395 (1969).
68. Hurwitz, S., Bar, A. and Cohen, I.: Regulation of calcium absorption by fowl intestine. Am.J.of Physiol., 225 (1) : 150-154 (1973).

69. Hurwitz, S., Fishman, S. and Talpaz, H.: Calcium dynamics: a model approach. J.Nutr., 117 : 791-796 (1987).
70. Jacob, K. and Reynolds, D.: The fluorine content of phosphate rock. Assoc.Offic.Anal.Chem., 11: 237-250 (1928). Citados por Guenter y Hahn (52).
71. Johnson, A.: Reproduction in the Female. In: Avian Physiology. Edited by Sturkie, P., 4th Edition. Springer-Verlag, NY (1986).
72. Jowsey, J., Borlie, M., Spinks, J. and O'Neil, J.: Uptake of calcium by laying hen and subsequent transfer from egg to chick. Poultry Sci., 35 : 1234 (1956). Citados por Van der Velde (136).
73. Kehayoglou, C., Williams, H., Whimster, W. and Holdsworth, C.: Calcium absorption in the normal bile duct ligated and cirrhotic rat, with observations on the effect of long and medium chain triglycerides. Gut, 9 : 597-603 (1968).
74. Kelsay, J., Behall, K. and Prather, E.: Effect of fiber from fruits and vegetable on metabolic responses of human subjects. II. Calcium, magnesium, iron and silicon balance. Am.J.Clin.Nutr., 32 : 1876-1880 (1979).
75. Kleerekoper, M. and Balena, R.: Fluorides and osteoporosis. Annu.Rev.Nutr., 11 : 309-324 (1991).
76. Kodicek, E.: The story of vitamin D from vitamin to hormone. Lancet, 1 : 325-329 (1974).
77. Leeson, S. and Summers, J.: Commercial Poultry Nutrition. University Books, Guelph Ontario, Canada (1991).
78. Lemire, J., Adams, J., Sakai, R. and Jordan, S.: 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. J.Clin.Invest., 74 : 657-661 (1984).
79. MacIntyre, I., Colston, K., Evans, I., Lopez, E., MacAuley, S., Piegnoux-Deville, J., Spanos, E. and Skelke, M.: Regulation of vitamin D: an evolutionary view. Clin.Endocrinol., 5 : 855-955 (1976).
80. Mahoney, A., Halbrook, R. and Hendricks, D.: Effects of calcium solubility on absorption by rats with induced achlorydria. Nutr.Metab., 18 : 310-317 (1975).

81. Mangelsdorf, D., Koeffler, H., Donaldson, D., Pike, J. and Hausler, M.: 1,25-dihydroxyvitamin D3 induced differentiation in a human promyelocytic leukemia cell line (41-61): receptor-mediated maturation to macrophage like cells. J.Cell.Biol., 98 : 391-398 (1987).
82. Medina, B. y Romero, S.: Evaluación de ortofosfatos de calcio nacionales. Memorias Convención de ANECA. ANECA, Ixtapa, Zihuatanejo (1987).
83. Merkley, J.: The effect of sodium fluoride on egg production, egg quality and bone strenght of caged layers. Poultry Sci., 60 : 771-776 (1981).
84. Michel, N., Suttie, W. and Sunde, L.: Fluorine deposition on bone as related to physiological state. Poultry Sci., 63 : 1407-1411 (1984).
85. Morrisey, R. and Wasserman, R.: Calcium absorption and calcium-binding protein in chick on differing calcium and phosphorus intakes. Am.J.Physiol., 220 (5) : 1509-1514 (1971).
86. Muñoz, S.: Conceptos básicos en la producción de ortofosfato de calcio. Memorias del 1er Simposio "El Fósforo en la Nutrición Animal". UNAM-SARH-IP, México (1988).
87. National Academic of Sciences: Effects of Fluorides in Animals. National Research Council, Washington (1974).
88. National Academic of Science: Nutrient requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Poultry. 9 th. edition. NAS, (1994).
89. National Academic of Sciences: Mineral Tolerance of Domestic Animals. National Academy Press- National Academic Science, Washington (1980).
90. Norman, A.: Intestinal calcium absorption: a vitamin D-hormone-mediated adaptative response. Am.J.Clin.Nutr., 51 : 290-300 (1990).
91. Norman, A.: Studies on vitamin D endocrine system in the avian. J.Nutr., 117 : 797-807 (1987).
92. Norman, A., Leathers, V. and Bishop, J.: Normal egg hatchability requires the simultaneous administration to the

hen of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 24R,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. J.Nutr., 113: 2505-2515 (1983).

93. North, M.: Manual de Producción Avícola. Segunda edición. El Manual Moderno S.A. de C.V. México (1986).

94. Orban, J. and Roland, D.: Correlation of eggshell quality with tibia status and other production parameters in commercial Leghorns at oviposition and 10 hour postoviposition. Poultry Sci., 69 : 2068-2073 (1990).

95. Padrón, M.: Calidad de cascarón en aves reproductoras pesadas. XV Convención Nacional Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. ANECA, Cancún, Quintana Roo (1990).

96. Pansu, D., Bellaton, C., Roche, C. and Bronner, F.: Duodenal and ileal calcium absorption in the rat and effects of vitamin D. Am.J.Physiol., 244 : G695-G700 (1983).

97. Paul, H. and Snetsinger, D.: Dietary calcium and phosphorus and variations in plasma alkaline phosphatase activity in relationship to physical characteristics of egg shells. Poultry Sci., 48: 241-251 (1969).

98. Per-Ake, H., Lutwak, L., Krook, L., Skogerboe, R., Kallfelz, F., Belanger, L., Marier, J., Sheffy, B., Romanus, B. and Hirsch, C.: Fluoride and nutritional osteoporosis: physicochemical data on bone from an experimental study in dogs. J Nutr, 100: 631-642 (1970).

99. Phillips, P., Halpin, J. and Hart, B.: The influence of chronic fluorine toxicosis in laying hens upon the fluorine content of the egg and its relation to the lipid content of the egg yolk. J.Nutr, 10: 93-98 (1935). Citados por Guenter y Han (52).

100. Pike, J.: Vitamin D<sub>3</sub> receptors: structure and function in transcription. Annu.Rev.Nutr., 11 : 189-216 (1991).

101. Pike, J., Spanos, E., Colston, K., MacIntyre, I. and Haussler, M.: Influence of estrogen on renal vitamin D hydroxylases and serum 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in chicks. Am.J.Physiol., 235: E339-E343 (1978).

102. Quintana, J.A.: Avitecnia. Manejo de las Aves Domésticas más Comunes. Primera edición. Trillas. México, D.F. (1988).

103. Rao, K.: Fluoride and bone disease in uremia. Fluoride, 10 : 22-28 (1977).
104. Rao, K. and Roland, D.: Influence of dietary calcium and phosphorus on urinary calcium in commercial Leghorns hens. Poultry Sci., 69 : 1991-1997 (1990).
105. Rasmussen, H., Wong, M., Bikle, D. and Goodman, D.: Hormonal control of the renal conversion of 25-hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol. J.Clin.Invest., 51 : 2502-2504 (1972).
106. Ribovich, M. and DeLuca, H., Archs Biochem Biophys, 170: 529-535 (1973).
107. Riddle, O., Rauche, V. and Smith, G.: Changes in medullary bone during the reproductive cycle of females pigeons. Anat.Rec., 90 : 295-305 (1944).
108. Roland, D.: Calcio y fósforo para ponedoras comerciales con énfasis especial en el metabolismo óseo. III. Seminario Internacional sobre Producción Avícola. International Poultry Consultants- University of Guelph, Canada (1993).
109. Sallis, J. and Holdsworth, E.: Influence of vitamin D on calcium absorption in the chick. Am.J.Physiol., 203 : 497-505 (1962).
110. Schneider, L., Schedl, H., McCain, T. and Haussler, M.: Experimental diabetes reduces circulating 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the rat. Science, 196 : 1452-1454 (1977).
111. Scott, M., Nesheim, C. and Young, J.: Nutrition of the Chicken. 3rd Edition. M.L.Scott and Associates Publishers, Ithaca (1982).
112. Shupe, J.: Clinical and pathological effects of fluoride toxicity in animals. In: Carbon-Fluorine Compounds Chemistry Biochemistry and Biological Activities. CIBA-Foundation. Association of Scientific Publishers, Amsterdam (1972). Citados por Wheeler (141).
113. Simon, G. and Suttie, J.: Effect of dietary fluoride concentration in the rat. J. Nutr, 96: 152-156 (1968). Citados por Van Toledo y Combs (137).

114. Simkiss, K.: Calcium metabolism and avian reproduction. Biol.Rev., 36 : 321-367 (1961).
115. Smith, S., Cowen, S., Dodge, J., Mix, G., Rumsey, A., Warner, A. and Woodwan, D.: Effect of added levels of fluorine on selected characteristics of eggshell and bone from caged layers. Poultry Sci., 49: 1438-1439 (1970) (Abstr.).
116. Soares, J.: Metabolic aspects of calcification in avians. J.Nutr., 117 : 783 (1987).
117. Soares, J.: Calcium metabolism and its control -a review. Poultry Sci., 63 : 2075-2083 (1984).
118. Soares, J. and Ottinger, M.: Plasma concentration of 1,25(OH)2D3, estradiol and calcium in laying hens selected for differential eggshell quality. Poultry Sci., 59 : 1663 (1980) (Abstr.).
119. Soares, J., Ottinger, M. and Buss, E.: Potential role of 1,25-dihydroxycholecalciferol in egg shell calcification. Poultry Sci., 67 : 1322-1328 (1988).
120. Sokal, R. and Rohlf, F.: Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. W.H. Freeman and Company., San Francisco (1968).
121. Somerville, B., Swaminathan, R. and Care, A.D., Br J Nutr, 39 : 441-414 (1978). Citados por Taylor T. and Dacke (129).
122. Spanos, E., Barret, D., MacIntyre, I., Pike, J., Safilian, E. and Haussler, M.: Effect of growth hormone on vitamin D metabolism. Nature, 273 : 246-247 (1978).
123. Spanos, E., Pike, J., Haussler, M., Colston, K. and Evans, I.: Circulating 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the chicken: enhancement by injection of prolactin during egg-laying. Life Sci., 19 : 1751-1756 (1976).
124. Steel, R.G. y Torrie, J.H.: Bioestadística. Principios y Procedimientos. Segunda edición. McGraw-Hill, México (1988).
125. Suda, T., Shinki, T. and Takahashi, N.: The role of vitamin D in bone and intestinal cell differentiation. Annu.Rev.Nutr., 10 : 195-211 (1990).
126. Suttie, J.: Effect of dietary fluoride on the pattern of food intake in the rat and development of a programmed pellet

dispenser. J.Nutr, 96: 529-536 (1968). Citados por Guenter y Han (52).

127. Tanaka, Y., Castillo, L. and DeLuca, H.: Control of renal vitamin D hydroxylases in bird by sex hormones. Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 73 : 2701-2705 (1976).

128. Tanaka, Y., Castillo, L., Wineland, M. and DeLuca, H.: Synergistic effect of progesterone, testosterone and estradiol in the stimulation of chick renal 25-hydroxyvitamin D3 - alpha-hydroxylase. Endocrinology, 103 : 2035-2039 (1978).

129. Taylor, T. and Dacke, C.: Calcium Metabolism and Its Regulation. In: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl, Edited by Freeman, B., Academic Press, Florida (1984).

130. Taylor, A. and Wasserman, R.: Vitamin D stimulation of calcium-binding protein and brush border enzyme activities. Fed.Proc., 29 : 368 (1970).

131. Taylor, T., William, S. and Kirkley, J.: Cyclic changes in the activities of plasma acid and alkaline phosphatases during eggshell calcification in the domestic fowl. Can.J.Biochem., 43 : 451-453 (1965).

132. Tsang, C. and Grunder, A.: Effect of vitamin D3 deficiency on estradiol-B metabolism in the laying hen. Endocrinology, 115 : 2170-2175 (1984).

133. Tsang, C. and Grunder, A.: Optimal dietary levels of 1,25-dihydroxycholecalciferol for eggshell quality in laying hens. Poultry Sci., 69 : 1702-1712 (1990).

134. Tucker, G., Gagnor, R. and Haussler, M.: Vitamin D-25 hydroxylases: tissue occurrence and aparent lack of regulation. Arch.Biochem.Biophys., 155 : 47-57 (1973).

135. Underwood, J.: The Mineral Nutrition of Livestock. 2nd edition. Commonwealth Agricultural Bureaux, London (1981).

136. Van de Velde, J., Loveridge, N. and Vermeiden, J.: Parathyroid hormone responses to calcium stress during eggshell calcification. Endocrinology, 115 : 1901-1904 (1984).

137. Van Toledo, B. and Combs, G.: Fluorosis in the laying hen. Poultry Sci., 63: 1543-1552 (1984).

138. Villaseñor, M.: Situación Actual de las Fuentes de Fósforo en México. En Memorias del 1er Simposio "El Fósforo en la Nutrición Animal", UNAM-SARH-IP, México (1988).
139. Wasserman, R., Comar, C. and Nold, M.: The influence of aminoacids and other organic compounds on the gastrointestinal absorption of calcium 45 and strontium 49 in the rat. J.Nutr., 59 : 371-383 (1956). Citados por Bronner (16).
140. Watanabe, E., Kobayashi, S., Terashima, Y. and Itoh, H.: Adenosine triphosphatase in the uterus and duodenum on chicken hen during eggshell formation. Poultry Sci., 68 : 564-568 (1989).
141. Wheeler, S. and Fell, R.: Fluorides in cattle nutrition. Nutrition Abstracts and Reviews-B, 53 (12) : 741-767 (1983).
142. Whitaford, G. and Pashley, B.: Effect of body fluid pH on fluoride distribution toxicity and renal clearance. In: Continuing Evaluation of the Use of Fluorides. Edited by Johansen, E., Taves, D. and Olsen, T. Westview Press, Colorado (1979). Citados por Wheeler (141).
143. Wideman, R.: Renal regulation of avian calcium and phosphorus metabolism. J.Nutr., 117: 808-815 (1987).
144. Wideman, R.: Parathyroid hormone induced phosphate excretion following preequilibration with  $^{32}\text{P}$ . Am.J.Physiol., 246 : F373-F378 (1984).
145. Zipkin, I., Eanes, E. and Shupe, J.: Effect of prolonged exposure to fluoride on the ash, fluoride, citrate and crystallinity of bovine bone. Am.J.Vet.Res., 25 : 1591-1597 (1964).
146. Zollitsch, W., Jeune, C., Leske, K. y Coon, C.: Utilización de aminoácidos cristalinos en las dietas de gallinas ponedoras. Quinto ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos sintéticos. Fermentaciones Mexicanas, México (1993).



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Norma Oficial Mexicana Obligatoria NOM-Y-192-1985. Productos para uso Agropecuario Alimentos Balanceados. Ingredientes Fosfato de Calcio como Fuente de Fósforo y Calcio.....	4
Cuadro 2. Absorción de calcio en función al consumo en gallinas durante la formación del cascarón.....	23
Cuadro 3. Composición de las dietas empleadas para las gallinas durante el estudio.....	41
Cuadro 4. Consumo de alimento de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado. ....	49
Cuadro 5. Peso corporal de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	51
Cuadro 6. Producción de huevo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	53
Cuadro 7. Producción masa-huevo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	55
Cuadro 8. Peso de huevo de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	57
Cuadro 9. Peso del cascarón de huevos de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	60
Cuadro 10. Gravedad específica de huevos de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	61

Cuadro 11. Gravedad específica del huevo.....	. 62
Cuadro 12. Actividad de la Fosfatasa Alcalina en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 65
Cuadro 13. Actividad de la 25-hidroxivitamina D <sub>3</sub> en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 71
Cuadro 14. Actividad de la 1,25-dihidroxivitamina D <sub>3</sub> en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 71
Cuadro 15. Contenido de cenizas en hueso de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 75
Cuadro 16. Contenido de Fluór en hueso de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 78
Cuadro 17. Contenido de Fósforo en hueso de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	. 80

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compartimentos involucrados en el transporte de calcio en la gallina de postura. ....	6
Figura 2. Estructura química de la vitamina D <sub>2</sub> (ergocalciferol) y de la vitamina D <sub>3</sub> (colecalciferol).....	8
Figura 3. Biosíntesis de la Vitamina D.....	10
Figura 4. Biosíntesis de la Hormona Paratiroidea.....	14
Figura 5. Respuesta fisiológica ante bajos niveles plasmáticos de calcio.....	25
Figura 6. Respuesta fisiológica ante bajos niveles plasmáticos de fósforo.....	26
Figura 7. Consumo de alimento de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	50
Figura 8. Producción de huevo de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	54
Figura 9. Comportamiento por edad de la Fosfatasa Alcalina en suero de gallinas consumiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	60
Figura 10. Comportamiento por horas de la Fosfatasa Alcalina en suero de gallinas recibiendo ortofosfato de calcio sin defluorinar y ortofosfato de calcio defluorinado.....	69