

# Niveles de calcio y fósforo disponible en gallinas durante 48 semanas en postura

## Levels of calcium and available phosphorus in laying hens during 48 weeks

Diana Angélica Gutiérrez Arenas<sup>a</sup>, Juan Manuel Cuca García<sup>a</sup>, Arturo Pró Martínez<sup>a</sup>, Carlos Miguel Becerril Pérez<sup>a</sup>, José Luis Figueroa Velasco<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se realizó un experimento para evaluar niveles de calcio (Ca) y fósforo disponible (Pd) en gallinas. Se utilizaron 300 gallinas Leghorn Hy-line W36 y se alimentaron con cinco tratamientos, tomando en cuenta los niveles óptimos de encontrados en la literatura. Las dietas fueron: T1, 4.34% Ca y 0.18% Pd; T2, 4.34% Ca y 0.23% Pd; T3, 4.62% Ca y 0.18% Pd; T4, 4.62% Ca y 0.23% Pd y T5, 3.25% Ca y 0.25% Pd. Se midió consumo de alimento, consumo de Ca y de Pd, conversión alimenticia, número de huevos, masa de huevo, peso del huevo, gravedad específica y porcentaje de cascarón. Para número de huevos, masa de huevo, consumo de alimento, conversión alimenticia y peso de huevo, no se encontraron diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ). Se observó mayor consumo de Ca ( $P<0.05$ ) en las gallinas de los tratamientos T3 y T4 (4.80 y 4.81 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>); en cuanto a consumo de fósforo disponible, las gallinas del T5 consumieron más ( $P<0.05$ ) que las demás (0.258 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). Para gravedad específica, hubo mejores resultados con T1, T3 y T4 (1.0837, 1.0841, y 1.0840;  $P<0.05$ ). En porcentaje de cascarón se observaron mejores resultados con las gallinas de T1, T2, T3 y T4 ( $P<0.05$ ). Se concluye que las concentraciones de Ca sugeridas por el NRC (1994), no son suficientes para máxima calidad del cascarón; sin embargo, los niveles de Pd 0.18 y 0.23% son menores a los sugeridos por el NRC, de 0.25%.

**PALABRAS CLAVE:** Requerimientos de calcio, Fósforo disponible, Calidad de cascarón.

### ABSTRACT

An experiment was conducted to evaluate levels of calcium (Ca) and available phosphorus (AP) in hens. For this study 300 Leghorn Hy-line W36 hens were used. Five treatments were evaluated, level of Ca and AP in the diet: T1, 4.34 and 0.18%; T2, 4.34 and 0.23%; T3, 4.62 and 0.18%; T4, 4.62 and 0.23% and T5, 3.25 and 0.25% (control). The experiment lasted 48 wk. It was measured feed, Ca and AP consumption, number of eggs, egg mass, feed conversion, egg weight, specific gravity and percentage of eggshell. In feed consumption, number of eggs, egg mass, feed conversion and egg weight, there were no differences among treatments ( $P>0.05$ ). Higher consumption of calcium ( $P<0.05$ ) was observed in the hens of T3 and T4 (4.80 and 4.81 g<sup>-1</sup> hen<sup>-1</sup>); in consumption of available phosphorus the hens of T5 consumed more ( $P<0.05$ ) than the others (0.258 g<sup>-1</sup> hen<sup>-1</sup>). For specific gravity with T1, T3 and T4 (1.0837, 1.0834 and 1.0841) there were better results ( $P<0.05$ ). In percentage of eggshell were observed better results for T1, T2, T3 y T4 ( $P<0.05$ ). It is concluded that the concentration of Ca and Pd suggested by the NRC (1994) are not sufficient for maximum eggshell quality.

**KEY WORDS:** Requirements of calcium, Available phosphorus, Eggshell quality.

### INTRODUCCIÓN

El fósforo es un nutriente esencial involucrado en muchos procesos metabólicos, y está relacionado con el metabolismo del calcio (Ca)

### INTRODUCTION

Phosphorus is an essential nutrient involved in many metabolic processes, and is related to the metabolism of calcium (Ca) for the

Recibido el 27 de julio de 2012. Aceptado el 8 de noviembre de 2012.

<sup>a</sup> Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230 Montecillo Texcoco, Estado de México., jmcuca@colpos.mx. Correspondencia al segundo autor.

para la formación del cascarón. El metabolismo del fósforo y Ca están estrechamente relacionados, por lo que una deficiencia o abundancia de uno puede interferir con la utilización del otro<sup>(1)</sup>. El fósforo es el tercer componente más caro en una ración<sup>(2)</sup> y tiene importancia ambiental debido a su excreción por parte del ave<sup>(3)</sup>. El Ca es importante porque su concentración en la dieta de gallinas ponedoras afecta la calidad del cascarón y la producción de huevo, provocando pérdidas económicas importantes para los productores cuando hay deficiencias en la dieta. El NRC (1994)<sup>(4)</sup> menciona un requerimiento de Ca de 3.25% para gallinas ponedoras con un consumo de alimento (CAL) de 100 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Sin embargo, cuando la edad de las gallinas es mayor, se reduce la utilización del calcio y el tamaño del huevo se incrementa, por esta razón se afecta negativamente la calidad del cascarón<sup>(5)</sup>. Algunos autores<sup>(6)</sup> indican que la selección genética ha cambiado las características de las gallinas de postura, las cuales son más productivas, con más bajos requerimientos para mantenimiento, pero también con bajos consumos de alimento, por lo que, consideran que los requerimientos de Ca y fósforo necesitan ser reevaluados constantemente.

Los requerimientos de calcio y fósforo disponible para gallinas de postura han sido evaluados; sin embargo, los estudios para un ciclo completo son escasos; se han reportado niveles óptimos biológicos de Ca para masa de huevo y gravedad específica de 4.34 y 4.62 %, respectivamente<sup>(7)</sup> mientras que para fósforo disponible los niveles óptimos biológicos son de 0.18 % de Pd para masa de huevo y conversión alimenticia y 0.23 para máxima gravedad específica<sup>(8)</sup>, resultados mayores que los reportados por el NRC<sup>(4)</sup>. Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar dietas con los niveles óptimos biológicos de cada mineral, para maximizar la calidad del cascarón en términos de gravedad específica y porcentaje de cascarón durante 48 semanas.

formation of eggshell. Phosphorus and Ca metabolism are closely related, so a deficiency or abundance of one may interfere with the other<sup>(1)</sup>. The phosphorus is the third most expensive component in a diet<sup>(2)</sup> and has an environmental importance due to its excretion by the birds<sup>(3)</sup>. Ca is important because its concentration in the diet of laying hens affects the quality of the eggshell and egg production, causing major economic losses for the producers when there are deficiencies on the diet. The NRC (1994)<sup>(4)</sup> mention a requirement of 3.25% Ca for laying hens with a feed intake (FI) of 100 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. However, when the age of hens is greater, calcium utilization is reduced and the size of the egg increases; for this reason the quality of the shell is negatively affected<sup>(5)</sup>. Some authors<sup>(6)</sup> indicate that genetic selection has changed the characteristics of laying hens, which are more productive, with low maintenance requirements, but also with low feed intake, so, Ca and phosphorus requirements need to be constantly re-evaluated.

The requirements of calcium and available phosphorus (AP) for laying hens have been evaluated; however, studies for one complete cycle are scarce. Some reports states biological optimum levels for egg mass and specific gravity of 4.34 and 4.62 %, respectively<sup>(7)</sup> while others mention biological optimum levels of 0.18 % of AP for egg mass and feed conversion and 0.23 % for maximum specific gravity<sup>(8)</sup>, results different from those reported by the NRC<sup>(4)</sup>. Therefore, the objective of this research was to evaluate diets with the biological optimum levels of each mineral, to maximize the quality of the eggshell in terms of specific gravity and percentage of eggshell for 48 wk.

## MATERIALS AND METHODS

Three hundred (300) Leghorn hens, 17-wk of age, of the Hy - Line ® W-36 were used in an experimental random design with five treatments and six replications of ten hens each. Two hens per cage were housed (50 x 20 x 40

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 300 gallinas Leghorn (17 semanas de edad) de la línea Hy-Line® W-36, en un diseño experimental al azar con cinco tratamientos y seis repeticiones de diez gallinas cada una. Se alojaron dos gallinas por jaula (50x20x40 cm), con cinco jaulas por repetición. El experimento duró 48 semanas divididas en seis períodos de ocho semanas cada uno; el agua y el alimento se suministraron *ad libitum*. Se proporcionó luz artificial para completar 16 h luz día<sup>-1</sup>. Se formularon cuatro dietas en las que se consideraron sólo los requerimientos óptimos de Ca (%) sugeridos por Castillo (4.34% para máxima producción de huevo y 4.62 para máxima gravedad específica)<sup>(7)</sup>, combinados con los de fósforo disponible (Pd) citados por Valdés (0.18% para máxima masa de huevo y 0.23% para máxima gravedad específica)<sup>(8)</sup>; las dietas fueron: T1, 4.34% Ca y 0.18% Pd; T2, 4.34% Ca y 0.23% Pd; T3, 4.62% Ca y 0.18% Pd y T4, 4.62% Ca y 0.23% Pd; y una dieta adicional (T5) con los niveles de Ca (3.25%) y Pd (0.25%) sugeridos por el NRC<sup>(4)</sup> para gallinas de postura.

Las dietas (Cuadro 1) fueron isoproteicas e isoenergéticas y cubrieron los requerimientos sugeridos por el NRC<sup>(4)</sup>, excepto Ca y P. El cálculo de las dietas se realizó con base a un CAL de 100 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup><sup>(9)</sup>. Para no alterar las concentraciones de los otros nutrientes en las dietas evaluadas, se utilizó arena en diferentes proporciones de acuerdo a cada tratamiento. El análisis de Ca y P en los ingredientes se determinó por medio de la técnica AOAC<sup>(10)</sup>, en un espectrofotómetro de absorción atómica Spectr AA\*10 Plus Varian, y los resultados fueron los siguientes: carbonato de calcio (33.3 % Ca), fosfato dicálcico (18 % Ca y 20.43 % P), para el sorgo (0.05 % Ca y 0.30 % P) y pasta de soya (0.30 % Ca y 0.58 % P). Para calcular Pd se usaron los siguientes porcentajes de disponibilidad de P: 33 % para sorgo, 41 % para pasta de soya y 100 % para fosfato dicálcico<sup>(4)</sup>.

cm), with five cages by repetition. The experiment lasted for 48 wk divided into six 8-wk periods. Food and water were supplied *ad libitum*. Artificial light was provided to complete 16 h light d<sup>-1</sup>. Four diets were formulated that considered only the optimal Ca requirements suggested by Castillo *et al* (4.34 % for maximum egg production and 4.62 for maximum specific gravity)<sup>(7)</sup>; combined with the AP cited by Valdés *et al* (0.18% for maximum egg mass and 0.23% for maximum specific gravity)<sup>(8)</sup>. The diets were: T1) 4.34% Ca and 0.18% AP; T2) 4.34% Ca and 0.23% AP; T3) 4.62% Ca and 0.18% AP; T4) 4.62% Ca and 0.23% AP; in addition, a control diet (T5) was used with the levels of Ca (3.25%) and AP (0.25%) suggested by the NRC<sup>(4)</sup> for laying hens (Table 1).

Diets were isoproteic and isoenergetic and satisfied the requirements suggested by the NRC<sup>(4)</sup>, except Ca and P. The calculation of the diets was based on a 100 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> intake<sup>(9)</sup>. Sand was used in different proportions according to each treatment, for not altering the concentrations of other nutrients in the diets. The analysis of Ca and P in the ingredients was determined by the AOAC technique<sup>(10)</sup>, in a Spectr AA atomic absorption spectrophotometer \* 10 Plus Varian, and the results were: calcium carbonate (33.3 % Ca), dicalcium phosphate (18 % Ca and 20.43 % P), for sorghum (0.05 % Ca and 0.30 % P) and soybean (0.30 % Ca and 0.58 % P). To calculate AP the following percentages of availability of P were used: 33 % for sorghum, 41 % for soybean meal and 100 % for dicalcium phosphate<sup>(4)</sup>.

The variables were: feed intake (FI), Ca consumption (CaC), available phosphorus consumption (APc), number of eggs (NE), egg mass (EM), feed conversion (FC), egg weight (EW), specific gravity (SG)<sup>(11)</sup> and percentage of eggshell (ShP).

A statistical model with repeated measures over time was used. For each variable an analysis of variance with the MIXED procedure was

Cuadro 1. Composición y análisis de las dietas experimentales

Table 1. Composition and analysis of the experimental diets

Ingredient (%)	Levels Ca, % AP, %	Treatments				
		4.34	4.34	4.62	4.62	3.25
Sorghum	57.14	54.29	57.14	54.29	57.14	
Soybean meal	24.68	25.26	24.68	25.26	24.68	
Soybean oil	3.59	4.49	3.59	4.49	3.59	
Calcium carbonate (33.3% Ca)	12.64	12.49	13.48	13.33	9.17	
Dicalcic phosphate(18% Ca; 20.43% P)	0.20	0.47	0.20	0.47	0.57	
L-Lisine HCl	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
DL-Methionine	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
Sand	0.92	2.18	0.08	1.34	4.02	
Prem. vit. & min. †	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
Pigment	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
Calculated analysis						
ME Mcal kg <sup>-1</sup>	2750	2750	2750	2750	2750	
Crude protein, %	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	
Lisine, %	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	
Methionine, %	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	
Met + Cys, %	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	
Analyzed calcium, %	4.34	4.33	4.63	4.64	3.26	
Total phosphorus analyzed, %	0.40	0.45	0.43	0.44	0.47	
Aparent available phosphorus, %	0.17	0.23	0.18	0.23	0.25	

† Per kilogram of feed: vit A, 7,700 IU; vit D<sub>3</sub>, 3 000 IU; vit E, 6.6 IU ; vi. K<sub>3</sub>, 2 mg; vit B<sub>2</sub>, 4.4 mg; vit B<sub>12</sub>, 0.0088 mg; pantotenic acid, 5.5 mg; niacine, 22 mg; folic acid, 0.11 mg; coline, 300 mg; Fe, 33 mg; Zn, 100 mg; Mn, 100 mg; Cu, 9 mg; Se, 0.3 mg; I, 0.9 mg; antioxidant, 5 mg.

Las variables fueron: consumo de alimento (CAL), consumo de Ca (CCa), consumo de Pd (CPd), número de huevos (NH), masa de huevo (MH), conversión alimenticia (CA), peso del huevo (PH), gravedad específica (GE)<sup>(11)</sup> y porcentaje de cascarón (PC).

Se utilizó un modelo estadístico con mediciones repetidas. Para cada variable se hizo un análisis de varianza con el procedimiento MIXED<sup>(12)</sup>; las medias se compararon con la prueba de Tukey ( $P<0.05$ ). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

made<sup>(12)</sup>; means were compared with the Tukey test ( $P<0.05$ ). The statistical model was:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Where  $Y_{ijk}$ = j-th repetition of the i-th treatment, the k-th period;  $\mu$ = common constant;  $T_i$ = fixed effect of the i-th treatment ( $i= 1,2,3,4,5$ );  $R_{j(i)}$ = random effect of the j-th replicate nested in the i-th treatment ( $j= 1,2,3,4,5,6$ );  $P_k$ = fixed effect of the k-th period ( $k= 1,2,3,4,5,6$ );  $(TP)_{ik}$ = fixed effect of the interaction of the i-th treatment with the k-th period;  $\varepsilon_{ijk}$ = experimental error.  $\varepsilon_{ijk} \sim IN(0, \sigma_e^2)$ .

Donde  $Y_{ijk}$ = repetición j-ésima del i-ésimo tratamiento, del k-ésimo periodo;  $\mu$ = constante común;  $T_i$ = efecto fijo del i-ésimo tratamiento ( $i=1,2,3,4,5$ );  $R_{ij}$ = efecto aleatorio de la j-ésima repetición anidada en el i-ésimo tratamiento ( $j=1,2,3,4,5,6$ ),  $R_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ;  $P_k$ = efecto fijo del k-ésimo periodo ( $k=1,2,3,4,5,6$ );  $(TP)_{ik}$ = efecto fijo de la interacción del i-ésimo tratamiento con el k-ésimo periodo;  $\varepsilon_{ijk}$ = error experimental.

El CAL semanal de cada repetición se dividió entre las diez gallinas que formaron la repetición y entre los siete días de la semana para obtener el CAL ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. El peso diario y el NH se sumaron cada siete días con el fin de obtener la producción semanal de huevos y su número. La MH se obtuvo al pesar diariamente los huevos de cada repetición, posteriormente cada siete días se sumó el peso diario para obtener la producción semanal de huevo, ésta se dividió entre el número de gallinas existentes en cada repetición (considerando la mortalidad) para obtener la producción por ave por semana, y al dividir ésta entre siete se obtuvo la masa de huevo en gramos por ave por día. La GE se llevó a cabo por medio de la metodología de Hamilton<sup>(11)</sup> y se midió cada 14 días, utilizando todos los huevos producidos por repetición del día que se llevó a cabo la medición. El PC se midió cada 30 días, tomando al azar, cuatro huevos por repetición, se pesaron juntos en la balanza electrónica y el peso se dividió entre cuatro para obtener el peso individual promedio, posteriormente se rompió cada huevo y se separó el contenido y las membranas de la cáscara. Los cascarones se metieron en una estufa de aire forzado a 60 °C durante 24 h, y se pesaron los cascarones secos para obtener el porcentaje del cascarón con respecto al peso del huevo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se puede observar que en CAL no hubo diferencias ( $P>0.05$ ) por efecto de los tratamientos (Cuadro 2); sin embargo, otros autores<sup>(6,7,13)</sup>, encontraron diferencias por

The weekly FI for each repetition was divided among the 10 hens which formed the repetition and the 7 d of the week to obtain the FI bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Daily weight and NE joined every 7 d in order to obtain the weekly production of eggs and their number. The EM was obtained by weighing daily eggs of each repetition. Every 7 d daily weight was added to obtain the weekly egg production, and divided by the number of hens in each replicate (considering mortality) to obtain the production per bird per week, and this was divided by seven to obtain egg mass in grams per bird per day. SG was obtained by Hamilton methodology<sup>(11)</sup> and measured every 14 d, using all the eggs produced by replicate the day that measurement took place. The ShP was measured every 30 d, taking at random four eggs per replicate, they were weighed together in an electronic scale and the weight was divided by four to get the average individual weight; subsequently each egg was broke and the content and the shell membranes spread. The shells were placed in an air forced stove to 60 °C for 24 h, and the dried shells were weighed to obtain the shell ratio with respect to the egg weight.

## RESULTS AND DISCUSSION

There were no differences in FI ( $P>0.05$ ) by treatment effect (Table 2); however, other authors<sup>(6,7,13)</sup>, found differences by effect of Ca level on diets of 2.96 to 5.2%, and mentioned that hens fed with marginal Ca levels tend to increase food consumption to get this mineral for the formation of eggshell. Some authors<sup>(14)</sup> indicate that the relationship between the CaC and the FI is contradictory, since sometimes by increasing dietary Ca more than it is required, the FI decreases or increases. In all periods except the first one, it was observed that the average feed intake (g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) was higher than 100 g (quantity suggested in the Hy-Line W-98 line manual)<sup>(9)</sup> probably because diets contained 2,750 kcal EM kg<sup>-1</sup> DM, and the quantity suggested to this genetic line is 2,830 kcal, and therefore the hens consumed more feed.

Cuadro 2. Consumo de alimento (FI), consumo de Ca (CaC), consumo de fósforo disponible (APc) y conversión alimenticia (FC) en gallinas Hy-Line W36

Table 2. Feed intake (FI), Ca consumption(CaC), available phosphorus consumption (APc) and feed conversion (FC) of Hy-Line W36 laying hens

Levels	Treatments					SE
	T1	T2	T3	T4	T5	
	Ca, %	4.34	4.34	4.62	4.62	3.25
AP, %	0.18	0.23	0.18	0.23	0.25	
FI (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	100.8	102.5	103.4	103.6	103.3	1.97
CaC (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	4.57 <sup>y</sup>	4.64 <sup>y</sup>	4.79 <sup>x</sup>	4.80 <sup>x</sup>	4.31 <sup>z</sup>	0.042
APc (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	0.171 <sup>z</sup>	0.236 <sup>x</sup>	0.186 <sup>y</sup>	0.238 <sup>x</sup>	0.258 <sup>x</sup>	0.002
FC	2.23	2.28	2.26	2.28	2.16	0.55
Periods						
	1	2	3	4	5	6
FI (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	96.9 <sup>c</sup>	106.3 <sup>a</sup>	102.9 <sup>b</sup>	104.0 <sup>ab</sup>	103.0 <sup>b</sup>	103.2 <sup>b</sup>
CaC (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	4.11 <sup>c</sup>	4.50 <sup>b</sup>	4.76 <sup>a</sup>	4.82 <sup>a</sup>	4.77 <sup>a</sup>	4.78 <sup>a</sup>
APc (g bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	0.206 <sup>c</sup>	0.226 <sup>a</sup>	0.218 <sup>b</sup>	0.221 <sup>ab</sup>	0.218 <sup>b</sup>	0.219 <sup>b</sup>
FC	2.78 <sup>c</sup>	2.15 <sup>a</sup>	2.04 <sup>a</sup>	2.04 <sup>a</sup>	2.09 <sup>a</sup>	2.36 <sup>b</sup>

<sup>abc</sup> Differences among periods ( $P \leq 0.05$ ).<sup>xyz</sup> Differences between levels ( $P \leq 0.05$ ).

efecto del nivel de Ca con dietas de 2.96 a 5.2%, y mencionan que las gallinas alimentadas con niveles marginales de Ca tienden a consumir más alimento para disponer de este mineral para la formación de cascarón. Algunos autores<sup>(14)</sup> indican que la relación entre el CCa y el CAL es contradictoria, ya que algunas veces al aumentar el Ca de la dieta más de lo requerido, el CAL disminuye o aumenta. Por efecto del periodo se observó que en todos excepto el primero, el consumo promedio de alimento (g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) fue mayor a 100 g (cantidad sugerida en el manual de la línea Hy-Line W-98)<sup>(9)</sup> lo cual pudo deberse a que las dietas contenían 2,750 kcal EM kg<sup>-1</sup> MS, y el sugerido para esta estirpe es 2,830 kcal, y por tanto las gallinas consumieron más alimento.

Se observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en CCa y CPd (Cuadro 2), las cuales corresponden a los incrementos en la concentración de estos minerales en la dieta, por lo que el incremento en el CCa dependerá de su concentración en la dieta, así como del CAL. Los mayores CCa

Differences were observed ( $P < 0.05$ ) on CaC and APc (Table 2), which correspond to increases in the concentration of these minerals in the diet, so the increase in the CaC will depend on their concentration in the diet, as well as the FI. The largest CaC observed in the present study (4.79 and 4.80 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) are different from some authors<sup>(7)</sup> who mention 4.89 and 5.38 g for hens fed with 0.4 % of AP and 4.31 and 4.82 % Ca, respectively. CaC increased ( $P < 0.05$ ) by the effect of the period due to the increase in the FI (Table 2). CaC increased with age of hens in the first three periods and then it was constant, increasing according to the age of hens, especially in the last third of the posture when they required more Ca to produce eggs with more resistant shell<sup>(15,16)</sup>. The APc increased ( $P < 0.05$ ) when this ingredient increased in the diet, results similar to other works<sup>(6,17,18)</sup>. With 0.25 % of AP and 3.25 % Ca suggested by the NRC<sup>(4)</sup>, there was a APc (0.258 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) higher ( $P < 0.05$ ) than that found for AP concentrations

observados en el presente estudio (4.79 y 4.80 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) son diferentes a los de algunos autores<sup>(7)</sup> quienes mencionan un CCa de 4.89 y 5.38 g con gallinas alimentadas con 0.4% de Pd y 4.31 y 4.82% de Ca, respectivamente. El CCa aumentó ( $P<0.05$ ) por efecto del periodo debido al incremento en el CAL (Cuadro 2). El CCa aumentó por la edad de las gallinas en los primeros tres periodos y luego fue constante, ya que al aumentar la edad de las gallinas, especialmente en el último tercio de la postura, requieren más Ca para producir huevos con cascarón más resistente<sup>(15,16)</sup>. El CPd incrementó ( $P<0.05$ ) cuando este elemento aumentó en la dieta (Cuadro 2), similar a lo encontrado en otras investigaciones<sup>(6,17,18)</sup>. Con 0.25% de Pd y 3.25% de Ca sugeridos por el NRC<sup>(4)</sup>, hubo un CPd (0.258 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) más alto ( $P<0.05$ ) que el encontrado con las concentraciones de Pd de los tratamientos 2 y 4 (0.236 y 0.238 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). Con los tratamientos 1 y 3, las gallinas consumieron en promedio 0.171 y 0.186 g ave<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> durante el experimento. Estos resultados fueron los

in treatments 2 and 4 (0.236 to 0.238 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). With treatments 1 and 3, hens consumed an average of 0.171 to 0.186 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> during the experiment. These results were the minimum phosphorus consumption in chickens, and are lower ( $P<0.05$ ) than the requirements suggested by the NRC of 0.25 g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> for laying hens. Higher APc was also observed ( $P<0.05$ ) in the second period, and remained constant throughout the experiment due to the FI increase.

FC values (Table 2) ranged from 2.16 to 2.28. Although without significant differences by treatment effect, they were lower than those reported by others<sup>(16)</sup>, who mention feed conversions of 2.43 and 2.30 with 3.5 and 4.0 % Ca. Among periods, the results were different ( $P<0.05$ ), since FC was higher in the first and in the last period due to an effect of lower production at the beginning and to the end of the laying period.

The interaction period \* treatment was only significant for CaC ( $P<0.05$ ) (Table 3) reflecting

Cuadro 3. Consumo de calcio en gallinas Hy-Line W36 (g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)Table 3. Calcium consumption in Hy-Line W36 laying hens (g bird<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)

Levels	Treatments					Mean
	T1	T2	T3	T4	T5	
	Ca, %	4.34	4.34	4.62	4.62	3.25
Pd,%	0.18	0.23	0.18	0.23	0.25	
Period						
1	4.07 k	4.18 l	4.56 k	4.49 k	3.24 k	4.11 c
2	4.49 j	4.47 k	4.98 i	5.05 i	3.52 j	4.50 b
3	4.74 i	4.64 jk	4.78 ij	4.81 j	4.86 i	4.76 a
4	4.76 i	4.88 i	4.86 i	4.79 j	4.79 i	4.82 a
5	4.66 ij	4.84 ij	4.87 i	4.76 j	4.72 i	4.77 a
6	4.70 i	4.86 i	4.70 i	4.89 ij	4.75 a	4.78 a
Mean	4.57 y	4.64 y	4.79 x	4.80 x	4.31 z	
SE	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042
P*T	**					

a,b Differences among periods ( $P\leq 0.05$ ).

x,y Differences between levels ( $P\leq 0.05$ ).

i,j Differences between levels inside periods ( $P\leq 0.05$ ).

SE= standard error; P\*T= Interaction period-treatment.

consumos mínimos de fósforo en las gallinas, y son más bajos ( $P<0.05$ ) que los requerimientos sugeridos por el NRC de 0.25 g ave $^{-1}$  día $^{-1}$  para gallinas de postura. También se observó el mayor CPd ( $P<0.05$ ) en el segundo periodo, y después se mantuvo constante durante todo el experimento debido al incremento en el CAL.

Los valores encontrados en esta investigación para CA (Cuadro 2), van desde 2.16 hasta 2.28 y aún cuando no hubo diferencia significativa por efecto de los tratamientos, estos valores fueron menores a los encontrados en otro estudio<sup>(16)</sup>, en donde se mencionan conversiones alimenticias de 2.43 y 2.30 con 3.5 y 4.0% de Ca. Entre periodos, los resultados fueron diferentes ( $P<0.05$ ), ya que la CA fue mayor en el primero y en el último periodo, debido a un efecto de una menor producción al inicio y final de la postura.

Sólo para CCa, la interacción periodo\* tratamiento fue significativa ( $P<0.05$ ; Cuadro 3) lo cual refleja el mecanismo de regulación de CCa por parte del animal para adaptarse a las condiciones de alimentación (Figura 1).

En el Cuadro 4 se observan los resultados de producción de huevo y calidad del cascarón. No se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) debidas al nivel de Ca y Pd en las variables productivas NH, MH y PH, lo cual puede deberse a que las gallinas cubren sus necesidades de Ca para producción, con la concentración más baja en este estudio (3.25%), y además las aves pueden tolerar altos niveles de Ca<sup>(19)</sup>; un comportamiento similar es reportado con consumos de Ca de 2.96 a 4.82%<sup>(7)</sup>. Según algunos autores<sup>(6)</sup> las gallinas cubren sus necesidades de Ca con 3.2% de este mineral y mencionan que el Ca extra en la dieta de las gallinas no mejora la producción de huevo; sin embargo, en este mismo estudio reportan un incremento en MH por efecto del nivel de PD debido a una mayor producción de huevo. En otro estudio realizado en gallinas alimentadas con 0.15 a 0.45% de Pd no se reportan diferencias en estas variables<sup>(17)</sup>. Por lo que los valores sugeridos

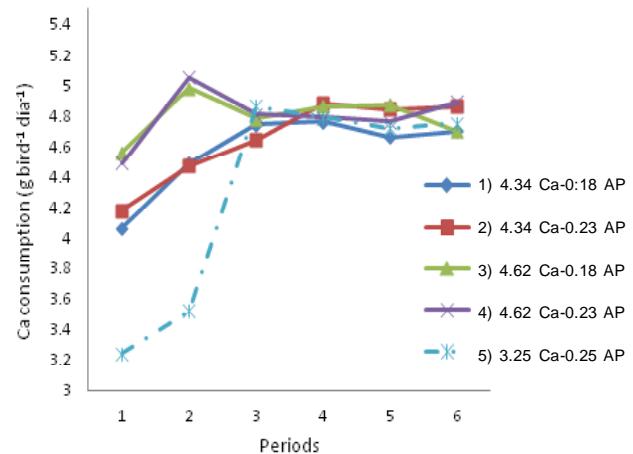
the regulatory mechanism of CaC by the animal to adapt to the conditions of the feed supply (Figure 1).

No differences ( $P>0.05$ ) due to the level of Ca and AP were found in the productive variables NE, EM and EW (Table 4). Hens may cover their AP needs for production, with the lower concentration used in this study (3.25%), and the birds can also tolerate high levels of Ca<sup>(19)</sup>; a similar performance is reported with Ca consumption from 2.96 to 4.82 %<sup>(7)</sup>. According to some authors<sup>(6)</sup> hens cover Ca needs with 3.2 % of this mineral and mention that the extra Ca in the diet of the hen does not improve egg production; however, in this same study reported an increase in EM for effect of AP level due to increased egg production. In another study conducted in hens fed with 0.15 to 0.45% of AP, there were no differences in these variables<sup>(17)</sup>. So the suggested values, both Ca and AP will depend on improvement in the quality of the eggshell.

NE was greater in the second period, from 25 to 32 wk of age, corresponding to the production

Figura 1. Interacción del periodo y tratamiento en el CCa de gallinas Leghorn Hy-line W36 durante 48 semanas de producción (17 a 65 semanas de edad)

Figure 1. Interaction of the period and treatment in CaC of hens Leghorn Hy-line W36 for 48 wk of production (17 to 65 wk of age)



tanto de Ca como de Pd dependerán de la mejora en la calidad del cascarón.

El NH fue mayor en el segundo periodo, de 25 a 32 semanas de edad, correspondiente al pico de producción<sup>(9)</sup>, con una disminución ( $P<0.05$ ) en los siguientes periodos (Cuadro 4). El pico de MH se alcanzó a partir del segundo periodo y se mantuvo hasta el periodo 4, éste se presentó posterior al pico de postura como se indica en la guía de manejo comercial para esta estirpe<sup>(9)</sup>. Estos resultados son semejantes a un estudio realizado con gallinas que consumieron de 3.2 a 5.2% de Ca<sup>(8)</sup> en donde el pico de MH se dio a partir de las 37 semanas de edad de las gallinas.

El PH aumentó ( $P<0.05$ ) a través de los periodos (Cuadro 4) y se observó el mayor peso (66.29 g) a partir de la semana 57 de edad, semejante al peso sugerido de 60 g para esta línea de gallinas<sup>(9)</sup>. Estos resultados son similares a los

peak<sup>(9)</sup>, with a decrease ( $P<0.05$ ) in the following periods (Table 4). EM peak was reached from the second period and was maintained until the period 4, this increase was subsequent to the laying peak as suggested for this genetic line in the commercial management guide<sup>(9)</sup>. These results are similar to a study of hens fed 3.2 to 5.2% Ca<sup>(8)</sup> where the EM peak was reached around from 37-wk of age.

EW increased ( $P<0.05$ ) by periods (Table 4) and the greater weight (66.29 g) was observed from 57-wk of age, similar to the 60 g weight suggested for this line of hens<sup>(9)</sup>. These results are similar to those obtained in another study<sup>(7)</sup> with 2.6 to 4.82% Ca concentrations, and an increase in EW was obtained through periods, with the greater weight (66.29 g) from 55-wk of age.

SG declined ( $P<0.05$ ) as the age of hens advanced (Table 4), and as some authors

Cuadro 4. Número de huevos (NE), masa de huevo (EM), peso del huevo (EW), gravedad específica (SG) y porcentaje de cascarón (ShP) en gallinas Hy-Line W36

Table 4. Number of eggs (NE), egg mass (EM), weight of the egg (EW), specific gravity (SG) and percentage of shell (ShP) in Hy-Line W36 laying hens

Levels	Treatments					SE
	T1	T2	T3	T4	T5	
	Ca, %	4.34	4.34	4.62	4.62	3.25
AP, %	0.18	0.23	0.18	0.23	0.25	SE
NE (eggs bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	0.80	0.82	0.78	0.79	0.80	
EM	46.75	44.30	47.89	47.45	49.16	0.66
EW (g)	60.90	61.53	61.21	61.54	60.75	0.24
SG	1.0837 <sup>xy</sup>	1.0834 <sup>y</sup>	1.0841 <sup>x</sup>	1.0840 <sup>x</sup>	1.0822 <sup>z</sup>	0.0002
ShP (%)	8.28 <sup>xy</sup>	8.37 <sup>x</sup>	8.42 <sup>x</sup>	8.40 <sup>x</sup>	8.20 <sup>y</sup>	0.053
Periods						
	1	2	3	4	5	6
NE (eggs bird <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	0.78 <sup>d</sup>	0.88 <sup>a</sup>	0.85 <sup>b</sup>	0.82 <sup>c</sup>	0.77 <sup>d</sup>	0.69 <sup>a</sup>
EM	39.80 <sup>c</sup>	50.05 <sup>a</sup>	50.96 <sup>a</sup>	51.53 <sup>a</sup>	49.70 <sup>a</sup>	45.42 <sup>b</sup>
EW (g)	52.94 <sup>f</sup>	58.13 <sup>e</sup>	61.08 <sup>d</sup>	63.79 <sup>c</sup>	64.78 <sup>b</sup>	66.29 <sup>a</sup>
SG	1.0902 <sup>a</sup>	1.0849 <sup>b</sup>	1.0818 <sup>c</sup>	1.0818 <sup>c</sup>	1.0813 <sup>c</sup>	1.0807 <sup>d</sup>
ShP (%)	8.64 <sup>a</sup>	8.63 <sup>a</sup>	8.38 <sup>b</sup>	8.29 <sup>b</sup>	7.98 <sup>c</sup>	8.08 <sup>c</sup>

abcdef Differences among periods ( $P\leq0.05$ ).

xyz Differences between levels ( $P\leq0.05$ ).

obtenidos en otro estudio<sup>(7)</sup> en donde se utilizaron concentraciones de Ca de 2.6 a 4.82%, y se obtuvo un incremento en el PH a través de los períodos, mencionándose el mayor peso (69.3 g) a partir de la semana 55 de edad.

La GE disminuyó ( $P<0.05$ ) conforme avanzaba la edad de las gallinas (Cuadro 4) y como mencionan algunos autores<sup>(6)</sup>, este comportamiento puede deberse a un aumento en el tamaño del útero de la gallina al avanzar su edad, así como un huevo de mayor tamaño que trae como consecuencia una disminución en la deposición de Ca en el cascarón, lo que disminuye la calidad de éste; además la gravedad específica tiende a declinar a lo largo de la postura debido a un aumento en el PH<sup>(20)</sup>.

Los valores más bajos ( $P<0.05$ ) de GE se observaron en los huevos de las gallinas que recibieron las concentraciones de Ca y Pd sugeridos por el NRC<sup>(4)</sup>, con respecto a los otros tratamientos (Cuadro 4). Cuando se compararon los resultados de los tratamientos con el mismo contenido de Ca pero diferente concentración de Pd, se observó que no hubo diferencias ( $P<0.05$ ) en los tratamientos con 0.18 y 0.23% de Pd, pero al aumentar el nivel de Pd a 0.25% se puede observar una disminución en la GE como lo reportan otros autores<sup>(18)</sup>, quienes consideran que el incremento en el nivel de P tiene un efecto lineal adverso en la GE, pero este efecto es sólo al alimentar a las aves con niveles mayores de 0.23% de Pd<sup>(8)</sup>. Se considera que cuando hay una baja concentración de P en sangre, se da una mayor síntesis de 1,25- (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, lo que incrementa la absorción tanto de Ca como de P en el intestino, y por tanto hay mayor calcificación del huevo; sin embargo se habla de sólo un efecto temporal<sup>(21)</sup>. Cuando se consideran solamente los niveles de Ca en la dieta, se encuentran diferencias ( $P<0.05$ ) entre el tratamiento con 4.34% de Ca y 0.23% de Pd con respecto a los demás, con excepción de el tratamiento con 4.34% de Ca y 0.17% de Pd (Cuadro 4), los cuales indican que la concentración de Ca consumida por las gallinas influye en la

mention<sup>(6)</sup>, this performance may be due to an increase in the size of the uterus from older hens, as well as a larger size egg. This causes a decrease in Ca deposition in the eggshell, decreasing the quality. In addition, specific gravity tends to decline through the laying period due to an increase in EW<sup>(20)</sup>.

SG lower values ( $P<0.05$ ) were observed in eggs of hens who received the concentrations of Ca and AP suggested by the NRC<sup>(4)</sup>, with respect to the other treatments (Table 4). When treatments results were compared with the same content of Ca, but different concentration of AP, treatments of 0.18 and 0.23% AP were similar ( $P>0.05$ ). When AP is increased to 0.25% a decrease in SG can be observed, as reported by other authors<sup>(18)</sup>, who considered that the increase in the level of P has a linear adverse effect on SG, but this effect only occurs by feeding the birds with levels higher than 0.23% of AP<sup>(8)</sup>. With a low concentration of P in blood, a greater synthesis of 1,25- (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> occurs, which increases the absorption of Ca and P in the intestine and therefore increased calcification of the egg; although it is only a temporary effect<sup>(21)</sup>. When only levels of Ca in the diet are considered, differences are found among treatments with 4.34% Ca and 0.23% of AP with respect to the others ( $P<0.05$ ), with the exception of the treatment with 4.34% Ca and 0.17% (Table 4). This indicates that the concentration of Ca consumed by hens affects egg SG, which agrees with other researchers<sup>(7,8,22)</sup>.

ShP decreased ( $P<0.05$ ) in each period (Table 4). This reduction at the end of periods could be due to the increase in EW, which demands greater deposition of Ca; however, the ability of the chicken to absorb Ca changes with age and does not correspond with the demand<sup>(19)</sup>. In terms of treatments, the PC was also lower ( $P<0.05$ ) in eggs from hens fed diets with Ca and AP levels suggested by the NRC<sup>(4)</sup>, compared with the other treatments. According to some research<sup>(8,18)</sup>, shell quality decreases with increasing phosphorus levels, so we can consider that the maximum eggshell quality

GE del huevo, lo cual coincide con otras investigaciones<sup>(7,8,22)</sup>.

El PC disminuyó ( $P<0.05$ ) en cada periodo (Cuadro 4); esta reducción al final de los periodos pudo deberse al aumento en el PH, el cual demanda mayor deposición de Ca; sin embargo, la habilidad de la gallina para absorber Ca cambia con la edad y no corresponde con dicha demanda<sup>(19)</sup>. En cuanto a los tratamientos, el PC también fue el más bajo ( $P<0.05$ ) en los huevos de las gallinas que consumieron la dieta con los niveles de Ca y Pd sugeridos por el NRC<sup>(4)</sup> en comparación con los demás tratamientos, ya que según algunas investigaciones<sup>(8,18)</sup>, la calidad del cascarón disminuye al incrementar los niveles de fósforo, por lo que podemos considerar que la máxima calidad del cascarón se da con concentraciones mayores a 3.25% de Ca y menores de 0.25% de Pd.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los resultados muestran que el Ca es importante para obtener mejor gravedad específica y porcentaje de cascarón, por lo que los requerimientos de Ca sugeridos por el NRC de 3.25%, no son adecuados para maximizar estas variables. Para los tratamientos utilizados, las diferencias en gravedad específica y porcentaje de cascarón se debieron a los niveles de Ca y no a los de Pd. Las dietas con 4.63% de Ca y 0.18% de Pd, así como 4.64% de Ca y 0.23% de Pd, maximizan la gravedad específica y el porcentaje de cascarón.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México. Proyecto 38286-B.

## LITERATURA CITADA

- Kebreab E, France J, Kwakkel RP, Leeson S, Darmani K H, Dijkstra J. Development and evaluation of a dynamic model

occurs at higher concentrations of 3.25% Ca and less than 0.25% AP.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

The results show that Ca is important for better specific gravity and percent eggshell, therefore the Ca requirements suggested by the NRC of 3.25%, are not adequate to maximize these variables. For treatments used, differences in specific gravity and percentage of eggshell were due to levels of Ca and not to the AP. Diets with 4.63% Ca and 0.18% AP, as well as 4.64% Ca and 0.23% AP, maximize the specific gravity and the eggshell percentage.

## ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by the National Council of science and technology (CONACYT) of Mexico. Project 38286-B.

*End of english version*

- 
- of calcium and phosphorus flows in layers. *Poult Sci* 2009;(88):680-689.
  - Vallardi GM, Morales LR, Ávila GE. Efecto de la adición de fitasa como fuente de fósforo inorgánico en dietas para gallinas de postura. *Tec Pecu Méx* 2002;40(2):181-186.
  - Keshavarz K, Austic RE. The use of low-protein, low-phosphorous, aminoacid- and phytase- supplemented diets on laying hen performance and nitrogen and phosphorous excretion. *Poult Sci* 2004;(83):75-83.
  - NRC. Nutrient Requirements of Poultry. Ninth Revised Edition. Nacional Research Council. Nacional Academy Press, Washington, DC. USA. 1994.
  - Al-Batshan HA, Scheideler SE, Black BL, Garlich JD, Anderson KE. Duodenal calcium uptake, femur ash and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poult Sci* 1994;(73):1590-1596.
  - Váldez NVM, Cuca GM, Pro MA, González AM, Suárez OME. Producción de huevo, calidad del cascarón y rentabilidad en gallinas de primer ciclo con niveles de calcio y fósforo disponible. *Rev Mex Cienc Pecu* 2011;2(1):69-83.
  - Castillo BC, Cuca GM, Pro MA, González AM, Morales E. Biological and economic optimum level of calcium in white Leghorn laying hens. *Poult Sci* 2004;(83):868-872.
  - Valdés NVM, Cuca GM, Pro MA, FigueroaVJL, González AM, Becerril PCM. Nivel óptimo de fósforo disponible aparente en

- gallinas Leghorn blanca de la línea Hy-line W36 durante el primer ciclo de producción. Téc Pec Méx 2006;(44):67-80.
- 9. Anónimo. Guía de manejo comercial 2009-2011 de Hy -Line W-36. Hy-Line Internacional, West Des Moines, Iowa, USA: 2009.
  - 10. AOAC. Official methods of analysis, 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists Inc. Arlington. Va. USA. 1990.
  - 11. Hamilton RMG. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. Poult Sci 1982;(61):2022-2039.
  - 12. SAS. Statistical Analysis System. The SAS system for Windows release 8.0. U.S.A. 1999.
  - 13. Liebert F, Htoo JK, Sunder A. Performance and nutrient utilization of laying hens fed low-phosphorous corn-soybean and wheat-soybean diets supplemented with microbial hytase. Poult Sci 2004;(84):1576-1583.
  - 14. Roland DA, Farmer M, Marple D. Calcium and its relationship to excess feed consumption, body weight, egg size, fat deposition, shell quality, and fatty liver hemorrhagic syndrome. Poult Sci 1985;(64):2341-2350.
  - 15. Bernardi E. Como optimizar la calidad del cascarón por medio de medidas de manejo. Tecn Avipec Latinoam Año 13, 2000;(153):22-26.
  - 16. Safaa HM, Serrano MP, Valencia DG, Frikha M, Jiménez-Moreno E, Mateos GG Productive performance and egg quality of Brown egg-laying hens in the late phase of production as influenced by level and source of calcium in the diet. Poult Sci 2008;(87):2043-2051.
  - 17. Boling SD, Douglas MW, Johnson ML, Wang X, Parsons CM, Koelkebeck KW, Zimmerman RA. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. Poult Sci 2000;(79):224-230.
  - 18. Sohail SS, Roland SrDA. Metabolism and nutrition: Influence of dietary phosphorus on performance of Hy-Line W36 hens. Poult Sci 2002;(81):75-83.
  - 19. Keshavarz K, Nakajima S. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. Poult Sci 1993;(72):144-153.
  - 20. Lim HS, Namkung H, Paik IK. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. Poult Sci 2003;(82):92-99.
  - 21. Roland DASr, Gordon RW. Phosphorus and calcium optimizationin laying diets with phytase. In: BASF Technical Symposium, Phytase in animal nutrition and waste management, Atlanta, GA. BASF Corporation, Mt. Olive, NJ. 1996:305-316.
  - 22. Keshavarz K. Nonphytate phosphorous requirement of laying hns with and without phytase on a phase feeding. Poult Sci 2000;(79):748-763.