

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE ZOOTECNIA**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE NUTRICIÓN**



**“EFECTO DE LA RELACIÓN CALCIO: FÓSFORO DISPONIBLE  
SOBRE EL CRECIMIENTO ALOMÉTRICO, MORFOMETRÍA,  
INTEGRIDAD Y MINERALIZACIÓN ÓSEA EN POLLOS DE  
ENGORDE”**

Presentado por:

**CRISTIAN GABRIEL UCULMANA MORALES**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**Lima – Perú**

**2015**

A mis padres, **Ursula** y **César**,  
por su amor y apoyo incondicional.

A mi hermano, **Jarod**, por ser mis  
ganas de hacer las cosas bien.

## AGRADECIMIENTO

A Carlos Vélchez Perales, por ser mi guía y maestro. Por tantas horas de tu tiempo y tu infinita sabiduría compartida. Ni un millón de hojas me bastarían para escribir mi gratitud y afecto hacia ti.

A Diego Martínez P., por ser mi ejemplo a seguir. Por tu infinita paciencia, tu apoyo constante, tus valiosos consejos y por la confianza depositada. Siempre te estaré agradecido.

A Elmer Rojas, por ser un hermano y por tantos momentos compartidos. A Jorge Tay y Fabiola Caqui, por estar en mi día a día y romper la rutina con inolvidables momentos.

A mis amigos y exitosos profesionales, quienes estuvieron a mi lado en todo momento: Manuel Luna, Iraida Santiago, Vanesa Quispe, Saira Carranza, Gabriela Abarca, Sheila Tinoco y Mónica Villavicencio. Además, a mis colegas del sector: Rony Riveros, Erick Villegas, Juan Carlos Espinoza, Alvaro Salinas, Jorge Pérez, Jorge Medrano, Iván Meza, Janella Anchayhua y Fernando Prado.

A Israel Vásquez, por tu grata compañía, amistad y apoyo.

A mis familiares, que me brindaron su completo apoyo: Solangel Morales, Bernardo López, Martín Morales, Irma Bardales y Marcolina López.

A grandes profesionales del sector: Freddy Horna, por toda tu paciencia y enseñanzas; Raquel Taipe, por tu carisma y apoyo; Aida Cordero, por tus enseñanzas y consejos; Roobin Torres, por compartir tus conocimientos; Marcial Cumpa, por tus enseñanzas; Luis Alata, por tus enseñanzas; Brian Tueros, por compartir tus conocimientos.

A Sonia Lazo, por tu amistad y consejos. A Carmen Emilia, por tu amistad y buena disposición.

A mi jurado de tesis y profesores: V. Vergara, V. Guevara y M. Echevarría, por su buena disposición y apreciaciones hacia la investigación.

A mi Universidad, la Agraria.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>I. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>II. Revisión de literatura</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Generalidades del calcio y fósforo</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Homeostasis del calcio y fósforo</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Interacciones del metabolismo del calcio y fósforo</b>	<b>6</b>
<b>2.4. Mineralización y desarrollo del tejido óseo</b>	<b>9</b>
<b>2.5. Salud e integridad ósea</b>	<b>11</b>
<b>2.6. Alometría</b>	<b>13</b>
<b>III. Materiales y métodos</b>	<b>15</b>
<b>3.1. Lugar y duración</b>	<b>15</b>
<b>3.2. Animales experimentales</b>	<b>15</b>
<b>3.3. Instalaciones, materiales y equipos</b>	<b>15</b>
<b>3.4. Programa de alimentación</b>	<b>16</b>
<b>3.5. Tratamientos</b>	<b>16</b>
<b>3.6. Procedimientos para la obtención de muestras</b>	<b>17</b>
<b>3.7. Variables de respuesta</b>	<b>20</b>
<b>a. Características morfométricas</b>	<b>20</b>
<b>b. Indicadores de mineralización ósea</b>	<b>22</b>

c. Mediciones de integridad esquelética	24
d. Indicadores de importancia comercial	25
e. Peso de estructuras	25
f. Coeficientes de crecimiento alométrico (CCA)	26
3.8. Diseño estadístico	26
IV. Resultados y Discusión	28
a. Características morfométricas	28
b. Indicadores de mineralización ósea	31
c. Indicadores de integridad esquelética	35
d. Indicadores de importancia comercial	37
e. Peso de estructuras	38
f. Coeficientes de crecimiento alométrico (CCA)	39
g. Contenido de ceniza en tibia	40
V. Conclusiones	43
VI. Recomendaciones	44
VII. Referencias bibliográficas	45
VIII. Anexo	61

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Número</b>		<b>Página</b>
1.	Fórmulas y contenido nutricional de las dietas	18
2.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre las características morfométricas	29
3.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre indicadores de mineralización	32
4.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre la integridad esquelética	36
5.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre el peso vivo e indicadores comerciales	38
6.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre el peso de estructuras	39
7.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre los coeficientes de crecimiento alométrico	40
8.	Efecto de la relación Ca:Pd sobre el contenido de ceniza en tibia	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Número		Página
1.	Envoltorio que identifica las patas de cada animal	19
2.	Huesos luego del procesamiento y su envase respectivo	19
3.	Medición del largo de la tibia	20
4.	Medición del volumen del tarso	21

## ÍNDICE DE ANEXO

<b>Número</b>		<b>Página</b>
<b>I.</b>	<b>Largo de los huesos</b>	<b>62</b>
<b>II.</b>	<b>Ancho de los huesos</b>	<b>63</b>
<b>III.</b>	<b>Volumen de los huesos</b>	<b>64</b>
<b>IV.</b>	<b>Peso de los huesos</b>	<b>65</b>
<b>V.</b>	<b>Densidad de los huesos</b>	<b>66</b>
<b>VI.</b>	<b>Índice de forma de los huesos</b>	<b>67</b>
<b>VII.</b>	<b>Índice de Seedor de los huesos</b>	<b>68</b>
<b>VIII.</b>	<b>Índice Quetelet de los huesos</b>	<b>69</b>
<b>IX.</b>	<b>Índice de robusticidad de los huesos</b>	<b>70</b>
<b>X.</b>	<b>Peso vivo, de carcasa, de pechuga e indicadores comerciales</b>	<b>71</b>
<b>XI.</b>	<b>Peso de órganos viscerales</b>	<b>72</b>
<b>XII.</b>	<b>Peso de órganos linfoides</b>	<b>73</b>
<b>XIII.</b>	<b>Variables de integridad esquelética</b>	<b>74</b>
<b>XIV.</b>	<b>Coefficientes de crecimiento alométrico</b>	<b>75</b>
<b>XI.</b>	<b>Contenido de ceniza en tibia</b>	<b>76</b>



## RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto de la relación calcio y fósforo disponible (Ca:Pd) sobre el crecimiento alométrico, morfometría e integridad ósea, respecto al contenido de ceniza en tibia. 68 pollos de la línea Cobb 500 de un día de edad fueron distribuidos en 12 jaulas experimentales y asignados, durante 21 días, a una de las siguientes dietas en harina (3072 kcal EM; 20.5% de PC): **T1**, Ca:Pd baja (1.13); **T2**, Ca:Pd media (1.55); **T3**, Ca:Pd adecuada (1.98). Ocho pollos adicionales del mismo lote fueron sacrificados para determinar los coeficientes de crecimiento alométrico (CCA). Al día 21, se sacrificaron todos los animales para extraer los fémures, tibiotarsos, tarsometatarsos, órganos viscerales y linfoides. Se evaluaron 47 variables que incluyeron peso corporal, de carcasa, de órganos viscerales y linfoides, CCA, morfometría ósea (peso, longitud, ancho, volumen, densidad e índices morfométricos), integridad esquelética (capacidad para caminar y lesiones de cabeza femoral) y contenido de ceniza en tibia. La data fue analizada empleando un Diseño Completo al Azar con 3 tratamientos y 4 repeticiones, aplicando el procedimiento ANOVA del programa SAS y la prueba de Duncan para comparación de medias. Los resultados mostraron que las variables de crecimiento alométrico no fueron afectadas ( $P > 0.05$ ) por las relaciones de Ca:P evaluadas. El contenido de ceniza en tibia fue afectado significativamente ( $P < 0.01$ ) por cada cambio en la relación Ca:Pd. En comparación con las relaciones de Ca:Pd de 1.98 y 1.55, la relación Ca:Pd de 1.14 afectó la capacidad para caminar ( $P < 0.03$ ), densidad de la tibia ( $P < 0.05$ ) e índice de forma del tarso ( $P < 0.02$ ). En conclusión, el contenido de ceniza en tibia es sensible a cambios en relación Ca:Pd, mientras que indicadores de morfometría e integridad ósea sólo son afectados cuando la relación Ca:Pd está por debajo 1.55.

**Palabras clave:** calcio, fósforo, morfometría ósea, pollos de carne

## I. INTRODUCCIÓN

La importancia del sector avícola radica en el crecimiento que ha experimentado esta industria con el paso de los años en respuesta a la creciente necesidad de alimento, a tal punto que hoy se habla de ganancia de peso por hora; este incremento en la productividad trajo consigo tres grandes problemas por afrontar: la susceptibilidad a enfermedades, los problemas metabólicos y los desórdenes esqueléticos.

Los desórdenes esqueléticos causan grandes pérdidas económicas alrededor del mundo, se estima que representan más del 30% del total de pérdidas y además genera un perjuicio en el bienestar del ave, los desórdenes esqueléticos necesitan una continua vigilancia a nivel genético, de manejo y nutricional, en este último punto, se tiene que poner especial interés en la nutrición mineral (ya que el 99% del calcio y el 80% del fósforo del organismo del ave se encuentran formando la matriz ósea).

Se reporta en literatura reciente la capacidad de adaptación de los pollos de engorde a bajos niveles de calcio en la dieta siempre que el nivel de fósforo sea el adecuado, utilizando como criterio una adecuada mineralización y la máxima respuesta productiva; sin embargo, pocos estudios plantean el uso de la morfometría ósea o la integridad esquelética, que en conjunto nos otorgan un panorama más amplio acerca de la salud ósea de las parvadas.

Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la relación calcio a fósforo disponible sobre el crecimiento alométrico, morfometría e integridad ósea respecto al contenido de ceniza en tibia, que es la variable usada al evaluar la mineralización ósea.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del calcio y fósforo

El calcio y el fósforo son los macro minerales más abundantes en el ave (Whitehead, 1995); ambos constituyen más del 70 por ciento de las cenizas del cuerpo, el 30 por ciento restante lo constituye la materia orgánica y los diversos tipos de colágeno (Bruno, 2002). Más del 99% del calcio y aproximadamente el 80% del fósforo se encuentran en el esqueleto como componentes de la hidroxiapatita (Cook, 2000); y además, ambos componentes son responsables de la salud e integridad ósea (Williams, 2000b).

Según Dibartola (2000), el calcio intracelular en su mayor parte se encuentra secuestrado por organelos, unido a membranas celulares o a proteínas celulares. El secuestro de  $\text{Ca}^{2+}$  en la mitocondria sirve para disminuir el aumento de la concentración citosólica de calcio, mientras que el retículo endoplasmático actúa como reservorio para aumentar la concentración citosólica de calcio cuando sea necesario. La manera más eficaz para regular la concentración interna del calcio se da cuando éste está unido a la membrana celular o a proteínas citosólicas, estas últimas actúan como segundos mensajeros cuando se modifica la actividad y configuración de la proteína.

El calcio extracelular que se encuentra en el plasma y en el suero, se encuentra en tres formas; la forma ionizada se encuentra en un 50 por ciento, el calcio quelado (unido a fosfato, bicarbonato, sulfato, etc.) representa alrededor del 10 por ciento y el 40 por ciento restante se encuentra unido a la proteína. El calcio ionizable y el calcio quelado son capaces de atravesar el filtro de membrana, además el calcio ionizable es la fracción biológicamente activa de mayor importancia en el suero (Toffaletti, 1983, citado por Dibartola, 2000).

La absorción de estos minerales se lleva a cabo especialmente en el duodeno y yeyuno superior, estas rutas están reguladas por la hormona 1,25-dihidroxicolecalciferol (Wasserman y Fuller, 1995). La estructura química de la fuente del fósforo influye en la disponibilidad de este mineral, la forma metabólicamente activa para el pollo de engorde es el ortofosfato ( $\text{PO}_4$ ); otras formas en las que se encuentra el fósforo en el organismo son el pirofosfato y el metafosfato, la primera consiste en dos moléculas enlazadas, mientras que la segunda está constituida por estructuras cíclicas; además, cuando las moléculas están entrelazadas (polifosfatos) la absorción a través de la pared intestinal del ave es bastante lenta, en consecuencia el nivel de absorción del fósforo es bajo (Gillis *et al.*, 1954). Lo mismo ocurre con el calcio, la forma en la que participa activamente en el metabolismo es bajo la forma de ión ( $\text{Ca}^{+2}$ ; Dibartola, 2000).

El calcio cumple funciones importantes en la constricción y relajación de los vasos sanguíneos, coagulación de la sangre, transmisión nerviosa, activación de enzimas y contracción de los músculos (McDonald *et al.*, 1995); también participa en la permeabilidad de membrana celular, facilita el paso de los nutrientes dentro y fuera de las paredes celulares (Dudek, 1997) e influye en la secreción de hormonas (Alvarado, 2007).

El fósforo es necesario para el crecimiento muscular, es componente principal de ácidos nucleicos y fosfolípidos, es componente y activador de numerosos complejos enzimáticos, mantiene el balance osmótico y el ácido-base, participa en el metabolismo de aminoácidos, interviene en la síntesis de proteína, y es el factor más importante del metabolismo energético al formar parte estructural de la molécula energética conocida como ATP (Barkley *et al.*, 2004); además tiene una reconocida acción negativa sobre la performance productiva, y considerando que no todos los fosfatos son igualmente disponibles para el animal según sea la forma del proceso de obtención (Lima *et al.*, 1997; Lima *et al.*, 1999; Fernandes *et al.*, 1999; Uculmana y Vílchez, 2015), lleva a que muchos nutricionistas agreguen este ingrediente con un margen de seguridad; sin embargo, hoy en día la preocupación por reducir el impacto ambiental nos ha llevado a tomar especial interés en este aspecto de la nutrición, tratando de reducir el contenido de fósforo en las excretas, por sus efectos negativos en aguas superficiales al causar la eutrofización de lagos (Rodehutschord, 2009).

## 2.2. Homeostasis del calcio y fósforo

Mantener la concentración del calcio sérico en equilibrio es complejo y requiere de acciones integradas de la Paratohormona (PTH), los metabolitos de la vitamina D y la calcitonina. El intestino y el riñón son los principales órganos reguladores del equilibrio del calcio en el cuerpo (García, 2003).

Para mantener el balance de calcio y por tanto una buena salud ósea, la regulación de la absorción de calcio de la dieta es un proceso muy relevante y depende de vías de absorción, la tasa de pasaje a través del intestino y de la solubilidad dentro del sistema gastrointestinal (Fleet y Schoch, 2010); una vez que el calcio fue solubilizado, el calcio atraviesa el intestino mediante dos vías de absorción, la primera es la vía paracelular o no saturable, esta vía es independiente de las regulaciones fisiológicas y solo se rige por la concentración de calcio a nivel luminal; la segunda es la vía intracelular o saturable, esta vía predomina cuando hay bajas concentraciones de calcio y por lo tanto este no puede trasladarse de manera pasiva, este proceso por tanto requiere energía (Ajibade *et al.*, 2010; Christakos *et al.*, 2011).

Un órgano comprometido en la homeostasis del calcio y fósforo también es el hueso, que además actúa como órgano de sostén y locomoción. El hueso es el principal reservorio mineral de calcio y de fósforo en el organismo (Cassis, 1984). El riñón es uno de los órganos que regula el metabolismo del calcio y del fósforo mediante el aumento o disminución de la reabsorción tubular de acuerdo a la acción de otras hormonas que actúan en el riñón (Ansar *et al.*, 2004).

La Paratohormona incrementa la reabsorción tubular renal de calcio y disminuye la reabsorción tubular renal del fósforo, por ello se retiene calcio y se excreta fósforo, mientras que la calcitonina tiene una acción inversamente proporcional a la acción de la Paratohormona, ya que produce la disminución en la absorción tubular de calcio y con ello se incrementa la absorción de fósforo (García, 2003).

La vitamina D es un esteroide que se presenta en muchas formas, de las cuales las más importantes en nutrición animal son D<sub>2</sub> (ergocalciferol) que se obtiene a partir de la provitamina de origen vegetal ergosterol, y D<sub>3</sub> (colecalfiferol) que se obtiene a partir de la provitamina de origen animal 7-deshidrocolesterol; estas provitaminas se activan en la piel por acción de los rayos ultravioletas provenientes del sol. En el caso particular de las aves, hay que considerar que la vitamina D<sub>2</sub> no manifiesta actividad biológica, por lo que se debe suplementar con vitamina D de origen animal o sintética. La forma activa de la vitamina D favorece la absorción a nivel intestinal del calcio, de esta manera regula la homeostasis del calcio (Cassius, 2005).

El colecalfiferol (D<sub>3</sub>) que ingresa al ave a través de la dieta, luego se dirige al hígado en donde se da la primera hidroxilación y se convierte en 25-(OH)D<sub>3</sub>, que es la forma más abundante en el organismo del ave; luego y según las necesidades se transporta a los riñones en donde sufre una segunda hidroxilación y se convierte en 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, que es la forma más activa de la vitamina D al ser la encargada de producir las proteínas de transporte del calcio y fósforo en el intestino delgado; además se regula por retroalimentación negativa, y cuando hay un exceso de calcio en el organismo se produce una tercera hidroxilación y la vitamina D se convierte en 1,24,25-(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, un metabolito que no tiene acción en la regulación de estos minerales (Cassius, 2005).

### **2.3. Interacciones del metabolismo del calcio y fósforo**

Además de la importancia del calcio y fósforo a nivel individual en la absorción y utilización de estos nutrientes, el metabolismo de estos minerales es en gran parte afectado por la relación que existe entre el calcio y el fósforo; así los pollos de engorde se adaptan a una amplia gama de concentraciones de fósforo o de calcio, sin disminuir su productividad, siempre y cuando se mantenga una relación idónea entre estos dos minerales. La deficiencia de calcio limita la utilización del fósforo y el exceso podría reaccionar con otros minerales para dar lugar a la formación de complejos insolubles en el lumen intestinal, lo que dificultaría la utilización adecuada de los demás nutrientes (Yan *et al.*, 2005b).

Pequeñas modificaciones en los niveles de calcio y fósforo en las dietas, producen cambios en los niveles de estos minerales presentes en la sangre; así Ansar *et al.* (2004) observaron mayores niveles de calcio en sangre en aves alimentadas con una relación mayor de calcio y fósforo, pero cuando utilizaron un nivel adecuado de calcio y fósforo (2:1), encontraron mayores niveles de fósforo en la sangre; este hallazgo es un indicativo de que las dietas en las que se aumenta la relación de calcio y fósforo, induce la hipofosfatemia en los animales, y podría ser un problema en casos en el que se tenga un contenido adecuado de fósforo pero alto de calcio en la dieta, que reduciría los niveles de fósforo en sangre.

En el caso que exista una deficiencia de fósforo, el metabolismo reacciona con una respuesta antihomeostática, incrementando los niveles de absorción de calcio, agravando la hipercalcemia y haciendo daño a los riñones (Page *et al.*, 1979).

De acuerdo a Hurwitz *et al.* (1995), niveles altos de calcio lleva a un inicial incremento de la concentración de calcio en sangre, lo que suprime la secreción de la paratohormona, consecuentemente se reduce la producción de calcitriol, reduciendo la absorción de calcio y fósforo en los intestinos, en una situación donde se debería incrementar para mantener una adecuada relación entre el calcio y el fósforo.

Según las recomendaciones del “*National Research Council*” (NRC, 1994), el requerimiento de Ca en dietas de pollos es de 1% entre la primer y la tercera semana de edad, 0.9% entre la tercera y la sexta semana de edad y 0.8% desde la sexta a la octava semana, cabe resaltar que estos requerimientos son muy estrictos; por ello cada línea genética también cuenta con sus propias recomendaciones, es así que las recomendaciones de calcio para la línea genética Cobb 500 (2012) para dietas de pollos de carne son 0.9% para dietas de cero a diez días, 0.84% para dietas de 11 a 22 días y 0.76% para dietas de 23 a más de 42 días. Si se utiliza un conocimiento basado en el desempeño de las aves, estos niveles de calcio pueden ser modificados de acuerdo a la respuesta productiva deseada (Rostagno *et al.*, 2005).

La deficiencia de calcio ocasiona reducción del crecimiento, disminución de la mineralización ósea, claudicación, fracturas espontáneas, convulsiones y raquitismo (Hand *et al.*, 2000). El raquitismo es causado por la deficiencia en calcio o vitamina D, por lo tanto es necesario suministrar calcio en la dieta y en cantidades y proporciones correctas (Whitehead, 2002), un bajo nivel de calcio en la dieta incrementa el consumo de alimento y por lo tanto también el consumo de agua en comparación con los pollos alimentados con los niveles completos de calcio (Damron y Flunker, 1995); en relación a esto Perry (1984) indica que el nivel de calcio en la dieta es inversamente proporcional a la absorción de calcio en el intestino delgado. Weaver (2001) señaló que una deficiencia de calcio puede ocurrir debido a una dieta con niveles bajos en calcio o por un exceso de fósforo en la dieta.

Existen indicios de que podrían ser necesarios unos niveles de calcio más elevados en las dietas de arranque de los pollos de carne para normalizar el desarrollo de la placa de crecimiento debido a los problemas típicos que encontramos en campo, como la necrosis de cabeza de fémur (NCF), el raquitismo, la discondroplasia tibial y más recientemente el síndrome del hueso negro (SHN) (Whitehead, 2009). El SHN se debe a la difusión de sangre a través de las zonas porosas del hueso, en especial cerca de la porción proximal de la tibia, esta sangre puede oscurecerse durante el procesamiento, lo que está originando el rechazo entre los consumidores (Whitehead, 2009) sobre todo en países en donde no se comercializa el animal en pie; sin embargo, la política de los nutricionistas de generar márgenes de seguridad para este mineral es una práctica inadecuada, debido a que el metabolismo del calcio no actúa de manera independiente para generar una respuesta positiva o negativa en el animal, sino que está íntimamente ligado al metabolismo del fósforo (Dhandu y Angel, 2003).

Desde que el fósforo es considerado como el tercer nutriente más costoso en la dieta, además de ser su excreción negativa para el medio ambiente, las industrias han puesto especial atención en los diversos métodos que existen para reducir el requerimiento en los animales, sin que se vea comprometida la máxima productividad; en este escenario Yan *et al.* (2005b) trabajó en la exposición a niveles por debajo del requerimiento de calcio y fósforo, demostrando que las líneas actuales de pollos de engorde se adaptan a la



restricción temprana de estos nutrientes presentando un crecimiento compensatorio posterior, que se explica por la mayor absorción de fósforo y calcio encontrada a nivel de duodeno en pollos que fueron restringidos nutricionalmente en comparación con pollos que recibieron niveles completos de estos nutrientes, hallazgo importante también desde el punto de vista ambiental, ya que al utilizarse de manera más eficiente el fósforo, las excretas contenían menos fósforo en comparación con las excretas de pollos sin restricción.

Cuando se pretende trabajar con calcio y fósforo, se debe tomar en cuenta variables sensibles al estudio, como mineralización ósea, integridad esquelética, problemas de patas, retención y excreción de estos minerales y morfometría ósea; ya que investigaciones demuestran que el peso corporal y demás variables que involucran performance, no necesariamente son sensibles (Waldroup *et al.*, 2000; Yan *et al.*, 2001; Dhandu y Angel, 2003; Yan *et al.*, 2005a); y en este punto se debe tener en cuenta criterios adecuados para recomendar los niveles apropiados de calcio y fósforo en la dieta, pues estos requerimientos son mayores si se toma en cuenta niveles máximos de mineralización; y son menores si se trata de encontrar una buena respuesta productiva (Rama Rao *et al.*, 2003; Alaeldein, 2012).

#### **2.4. Mineralización y desarrollo del tejido óseo**

El esqueleto de las aves es más ligero que el de los mamíferos ya que gran parte de los huesos que conforman su esqueleto contienen aire en vez de médula ósea, formando dentro del hueso lo que se conoce como agujeros neumáticos, estas adaptaciones anatómicas son las que permiten el vuelo en estas especies (Cano, 2009).

Las características mecánicas de los huesos dependen de su función, siendo los huesos largos palancas diseñadas para la carga y movimiento, en que se favorece la rigidez sobre la flexibilidad (Seeman y Delmas, 2006); en este contexto Barreiro *et al.* (2009) sugiere que el tejido óseo presenta una plasticidad debido a que responde a estímulos determinados y es capaz de responder a estos adaptándose a las condiciones patológicas, metabólicas y fisiológicas que se presenten. Es así que, la madurez ósea se alcanza cuando se ha

completado el desarrollo estructural básico y la mineralización, y se ha alcanzado la fortaleza mecánica óptima (Rath *et al.*, 2000).

El hueso está compuesto aproximadamente en un 70% por minerales, 20% de materia orgánica y 10% agua (Rath *et al.*, 2000). La matriz mineral está compuesta en un 95% por calcio y fósforo bajo la forma de hidroxiapatita, que constituye de 60 a 70% del peso del hueso (Rath *et al.*, 1999; 2000). Aproximadamente 80 a 90% de la matriz orgánica está constituida por colágeno tipo I, que con su característica fibrosa y su estructura de triple hélice forma el andamiaje primario de los tejidos esqueléticos y provee la base para el proceso de mineralización (Rath *et al.*, 2000).

La rigidez del hueso radica en la deposición de calcio y fósforo en la forma de hidroxiapatita durante el proceso de mineralización (Rath *et al.*, 1999; 2000; Almeida Paz y Bruno, 2006), siendo el contenido de ceniza del hueso proporcional a su resistencia a la compresión (Bonser y Casinos, 2003); además, la flexibilidad del hueso depende del componente orgánico del mismo (Velleman, 2000) y los factores que afectan la fuerza del hueso son las toxinas, antinutrientes, velocidad de crecimiento, edad, sexo, patologías, carga física, el sistema endocrino y la genética (Rath *et al.*, 2000).

El crecimiento de los huesos largos en pollos de carne está dado por el proceso de osificación endocondral, que tiene lugar en las placas de crecimiento hipofisiario (Whitehead, 2009). Los condrocitos de las placas de crecimiento están expuestos a procesos de desarrollo, proliferación y diferenciación, es durante este último proceso que las células secretan una matriz de colágeno intracelular que permite el inicio de la mineralización depositando fosfato cálcico. A este proceso le sigue la formación del hueso por la acción de los osteoblastos; la remodelación posterior del hueso es un proceso continuo con reabsorción ósea y esta acción es llevada a cabo por los osteoclastos (Buckner *et al.*, 1950; Whitehead, 1995); así, los huesos de los pollos de 3 semanas de edad son significativamente más rígidos en comparación con los de 2 semanas de edad, ya que hay un mayor contenido relativo de mineral y menor grosor del hueso (Kim *et al.*, 2011).

Dado que la fortaleza ósea no está en función de la velocidad de crecimiento, sino del peso corporal (McDevitt *et al.*, 2006), la remodelación del hueso debe coincidir con la ganancia de peso; si no hay coincidencia entre la ganancia de peso y la remodelación, esto puede conllevar a un deterioro de la salud ósea (Durairaj, 2008), haciendo prevalentes las actuales patologías óseas como la necrosis de cabeza de fémur, raquitismo, discondroplasia tibial y síndrome del hueso negro (Whitehead, 2009); todo esto bajo el contexto de que las líneas genéticas actuales de pollos de carne, seleccionadas por su alto potencial de crecimiento y eficiente transformación del alimento, tienen huesos con las dimensiones correctas para el soporte de su peso pero son relativamente pobres en densidad y en contenido mineral, lo que aumenta el riesgo de sufrir una patología a este nivel (Williams *et al.*, 2000a).

Por tanto, el desarrollo óseo plantea varios desafíos a la producción avícola, más concretamente en los pollos de engorde, en el que un esqueleto inmaduro tiene que soportar la carga de peso, que aumenta tras el avance genético en respuesta a la demanda de alimentos de origen animal, el papel de la nutrición en este sentido es el de proporcionar un adecuado equilibrio de nutrientes, con el fin de que los huesos se desarrollen de manera correcta y en el tiempo previsto, siendo esencial la nutrición de calcio y fósforo (Uculmana y Vilchez, 2015a).

## **2.5. Salud e integridad Ósea**

Una inadecuada salud ósea es el mayor problema que enfrenta la industria del pollo de carne (Rath *et al.*, 1999); los problemas óseos resultan en una pobre productividad, aumento de la mortalidad y condenaciones en planta, lo que afecta directamente la rentabilidad de la casa productora.

Los pollos de engorde presentan un crecimiento inicial increíble, en la primera semana estas aves cuadruplican su peso inicial (Cobb, 2012); como la energía, nutrientes, vitaminas y minerales están ocupados en este vertiginoso crecimiento, estas aves son más propensas a presentar problemas con el desarrollo del esqueleto y a menudo presentan deterioro de la salud de piernas (Zelenka, 2012).

Los problemas de patas en pollos de engorde pueden ser causados por muchos factores como la genética, edad del ave, densidad de crianza, condiciones ambientales y de manejo, nutrición, desórdenes metabólicos, enfermedades y micotoxinas, cualquier factor que interfiera con el correcto desarrollo de las estructuras óseas puede causar anormalidades en los huesos o en las piernas (Wu *et al.*, 1993; Naas, 2008).

Oviedo-Rondón *et al.* (2006) clasificaron los problemas de patas como infecciosos y no infecciosos; acerca de los no infecciosos, y por tanto concernientes a la genética y alimentación, tenemos las deformidades de las patas conocidas como varus y valgus, que son las más frecuentes causantes de cojera y de problemas esqueléticos; de estas dos, el valgus es la deformidad más común (Julian, 1984); y puede llegar a convertirse en lo que se llama “piernas torcidas” (“*twisted legs*”; Thorp, 1992; 1994); otra deformidad común es la llamada “dedos de los pies torcidos” (“*crooked toes*”; Crespo y Shivaprasad, 2003).

Un problema adicional son los llamados desórdenes en la locomoción, que son frecuentes en las líneas actuales de pollos de engorde debido al rápido crecimiento; anormalidades en el desarrollo del sistema esquelético afectan directamente la capacidad para caminar de las aves, y estos animales son los que tienen una inadecuada ganancia de peso (Kestin *et al.*, 1999; Kestin *et al.*, 2001), disminuyendo así la rentabilidad de las compañías; además de ser un problema a nivel de bienestar animal ya que estas aves, al no poder desplazarse, no pueden acceder ni al alimento ni al agua (Weeks *et al.*, 2000).

El estado del esqueleto es comúnmente utilizado como un indicador de nutrición mineral adecuada (Onyango *et al.*, 2003; Uculmana *et al.*, 2015b), y consecuentemente es usada para evaluar niveles adecuados de calcio y fósforo; la ceniza en tibia es considerada y usada como una variable bastante sensible a la variación de calcio y fósforo; pero con la finalidad de reducir los costos y el tiempo para obtener los resultados, la resistencia a la rotura del hueso, es utilizada como un método alternativo para evaluar mineralización ósea (Shaw *et al.* 2010).

Otro método para evaluar una buena mineralización es mediante la determinación del contenido mineral del hueso (BMC, por sus siglas en inglés) y densidad mineral del hueso (BMD, por sus siglas en inglés) usando la técnica de absorciometría dual de rayos X (DEXA; Angel *et al.*, 2006).

## **2.6. Alometría**

La alometría puede ser definida como el estudio de los cambios proporcionales asociados con la variación en el tamaño, ya sea del cuerpo, de algún órgano o de una estructura corporal y su relación con características morfológicas, fisiológicas y químicas de los seres vivos; la alometría es antagónica a la isometría “una misma medida”, en la cual una estructura crece en una misma proporción, manteniendo una similaridad geométrica, esto porque las dimensiones son multiplicadas por un mismo factor (Gould, 1966).

La alometría es puramente una ley empírica, pero nos da las bases teóricas para explicar varios fenómenos; es importante enfatizar que los parámetros en las leyes del crecimiento y los parámetros de las leyes alométricas pueden en principio estar relacionados a los parámetros que caracterizan los mecanismos componentes de un sistema en su estado normal de crecimiento o de desarrollo (Savageau, 1979).

Los patrones de crecimiento alométrico vienen cambiado como resultado de la intensa selección genética; es así que desde el año 1957 al 2005, el crecimiento de los pollos de engorde se ha incrementado un 400 por ciento y la conversión alimentaria ha disminuido en un 50 por ciento (Zuidhof *et al.*, 2014); sin embargo, esto no es algo general en todas las especies avícolas ya que Nir *et al.* (1993) demostraron que el crecimiento alométrico del intestino delgado y del hígado fue mayor en pollos de engorde que en líneas de postura, con este hecho se explica la eficiencia que tiene el pollo de engorde en transformar el alimento suministrado en proteína animal y además el corto periodo productivo que tiene esta especie.

Zuidhof (2005) menciona que el desarrollo de la carcasa de los pollos de engorde es altamente dinámica y depende del tiempo de vida del animal, ya que en las primeras etapas de la vida del pollo, es la prioridad el desarrollo de las estructuras corporales, mientras que a partir de la tercera semana de vida del animal y con la línea genética actual, especializada para una producción eficiente de proteína animal, es el crecimiento del músculo la nueva prioridad.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar y duración**

La fase experimental se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de investigación en nutrición y alimentación de aves (LINAA), departamento académico de nutrición, facultad de zootecnia. Tuvo una duración de 21 días comprendidos entre los meses de Octubre y Noviembre del 2014. El sacrificio de los animales y el procesamiento de las muestras se llevaron a cabo en las instalaciones del LINAA.

#### **3.2. Animales experimentales**

Se utilizó 60 pollos machos de 1 día de edad, de la línea Cobb 500, distribuidos en 12 unidades experimentales. Al concluir los 21 días de la fase experimental, se sacrificaron todos los animales para las mediciones correspondientes. Ocho pollos adicionales de un día de edad fueron sacrificados como parte del procedimiento para obtener los coeficientes de crecimiento alométrico.

#### **3.3. Instalaciones, materiales y equipos**

Se utilizó una batería con calefacción eléctrica controlada por termostatos, con cinco pisos divididos en compartimentos; cada unidad experimental contó con un comedero y un bebedero. Para la recolección de las excretas, cada piso contó con una bandeja de material galvanizado que se podía retirar fácilmente para su limpieza.

Para la necropsia de las aves se utilizó tijeras, guantes quirúrgicos y bolsas descartables. Se utilizó, por su practicidad, la técnica de sacrificio conocida como dislocación cervical. Para el procedimiento del hervido de las muestras se utilizó una cocina pequeña de dos hornillas, un balón de gas con todos sus implementos, una olla y malla mosquitera en suficiente cantidad para cubrir las muestras. Para el almacenamiento de los huesos se utilizaron envases de plástico con orificios para favorecer la ventilación y cintas para identificar la procedencia de los huesos; los huesos se dejaron secar por una semana antes de realizarse las mediciones correspondientes.

Los huesos y órganos muestreados fueron pesados empleando una balanza electrónica de precisión. Para la determinación del volumen de los huesos muestreados se utilizó probetas graduadas de 10 y 25 cm<sup>3</sup>, con una aproximación de 0.2 cm<sup>3</sup> y 0.5 cm<sup>3</sup> respectivamente. Para determinar el largo y ancho de los huesos se empleó un vernier profesional con capacidad de 15 cm y una aproximación de 0.05 mm.

### **3.4. Programa de alimentación**

La preparación de las dietas se realizó en la planta de alimentos balanceados del programa de investigación y proyección social en alimentos, facultad de zootecnia. El alimento y el agua se suministraron a libre disposición del animal. Hubo una única dieta suministrada desde el primer día hasta el final, según los tratamientos.

### **3.5. Tratamientos**

Se formularon 3 dietas modificando la relación calcio a fósforo disponible (Ca:Pd), para ello se utilizó el requerimiento promedio de la etapa de inicio y crecimiento siguiendo las recomendaciones nutricionales de la línea genética Cobb 500 (Cobb, 2012); las características de las dietas se encuentran en el **Cuadro 1**.



- **Tratamiento 1:** Relación Ca:Pd 1.13 en la dieta (Ca: 0.50% - Pd: 0.44%).
- **Tratamiento 2:** Relación Ca:Pd 1.55 en la dieta (Ca: 0.68% - Pd: 0.44%).
- **Tratamiento 3:** Relación Ca:Pd 1.98 en la dieta (Ca: 0.87% - Pd: 0.44%).

### 3.6. Procedimientos para la obtención de estructuras corporales y huesos

Los animales fueron sacrificados según el método de dislocación cervical e inmediatamente después se realizaron las mediciones, a fin de evitar que los resultados puedan afectarse por cambios post-mortem (Bowes y Julian, 1988). A las aves se les extrajo el hígado, el proventrículo junto con la molleja (P+M), los intestinos, el corazón y la pechuga; las mismas partes que fueron extraídas a los pollos de un día de edad.

Luego se retiró las patas del cuerpo, las dos patas de cada ave fueron introducidas en una malla mosquitera con un número plastificado para identificar individualmente a cada animal, formando en cada caso un envoltorio (**Figura 1**). Este envoltorio fue puesto en agua hirviendo por el lapso de 15 minutos para remover el tejido del hueso (Buckner *et al.*, 1950; Applegate y Lilburn, 2002), procedimiento que no altera el contenido mineral ni la densidad del hueso pero permite retirar hasta el 80% de grasa contenida en los huesos (Almeida Paz *et al.*, 2008).

**Cuadro 1: Fórmulas y contenido nutricional de las dietas**

Composición, %	Tratamientos *		
	1	2	3
Maíz	58.15	58.15	58.15
Torta de soya	32.52	32.52	32.52
Aceite crudo de soya	4.82	4.82	4.82
Fosfato dicálcico	1.62	1.62	1.62
Sal común	0.47	0.47	0.47
DL-Metionina	0.26	0.26	0.26
HCl-Lisina	0.14	0.14	0.14
Premezcla de vitaminas y minerales <sup>1</sup>	0.12	0.12	0.12
Cloruro de colina 60	0.10	0.10	0.10
Antioxidante	0.05	0.05	0.05
Zinc bacitracina	0.05	0.05	0.05
Secuestrante de micotoxinas	0.05	0.05	0.05
L-Treonina	0.05	0.05	0.05
Arena fina	1.59	1.12	0.64
Carbonato de calcio	0.00	0.47	0.95
<b>TOTAL, %</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>
<b>Contenido nutricional calculado</b>			
EM, kcal/Kg	3072	3072	3072
Proteína cruda, %	20.5	20.5	20.5
<b>Calcio, %</b>	<b>0.50</b>	<b>0.68</b>	<b>0.87</b>
Fósforo disponible, %	0.44	0.44	0.44
Sodio, %	0.20	0.20	0.20
Lisina, %	1.22	1.22	1.22
Met+Cis, %	0.92	0.92	0.92
Lisina dig., %	1.12	1.12	1.12
Metionina dig., %	0.55	0.55	0.55
Met+Cis dig., %	0.84	0.84	0.84
Treonina dig., %	0.73	0.73	0.73
Triptófano dig., %	0.22	0.22	0.22
<b>Relación Ca:Pd</b>	<b>1.13</b>	<b>1.55</b>	<b>1.98</b>

\* T1, relación Ca:Pd 1.13; T2, relación Ca:Pd 1.55; T3, relación Ca:Pd 1.98.

<sup>1</sup>Premezcla de vitaminas y minerales contiene por Kg. de premezcla. Vit. A, 12'000'000 IU; Colecalciferol, 2'500'000 IU; Vit. E, 30'000 IU; Vit. B<sub>12</sub>, 0.015 g; Biotina, 0.15 g; Ácido fólico, 1 g; Niacina, 30 g; D-Ácido pantoténico, 11 g; Piridoxina, 3 g; Riboflavina, 5.5 g; Cu, 8 g; I, 1 g; Fe, 80 g; Mn, 65 g; Se, 0.15 g; Zn, 45 g.



**Figura 1. Envoltorio que identifica las patas de cada animal**

Luego, se retiró manualmente los tejidos y cartílagos presentes en las zonas de articulación siguiendo el procedimiento de Baumel y Witmer (1993) para obtener los fémures, tibiotalos (tibia) y tarsometatarsos (tarsos). Los huesos fueron limpiados con papel toalla y colocados en un recipiente plástico (Figura 2). Una semana después se hicieron las mediciones respectivas.



**Figura 2. Huesos luego del procesamiento y su envase respectivo**

### 3.7. Variables de respuesta

Se agruparon las variables según su grado de relación en: características morfométricas, indicadores de mineralización ósea, mediciones de integridad esquelética, indicadores de importancia comercial, peso de estructuras, coeficientes de crecimiento alométrico y contenido de ceniza en tibia.

#### a. Características morfométricas

- **Largo de los huesos**

Se midió el largo de los huesos: fémur, tibia (**Figura 3**) y tarso de las aves que fueron sacrificadas el día 21, se consideró la longitud de extremo a extremo de cada hueso. Los valores se presentan en milímetros (mm).



**Figura 3. Medición del largo de la tibia**

- **Ancho de los huesos**

Se midieron dos diámetros, el diámetro latero-lateral (DLL) y el diámetro cráneo-caudal (DCC), ambos a nivel del centro de la diáfisis (Kocabagli, 2001; Applegate y Lilburn, 2002; Martínez, 2012), de los huesos: fémur, tibia y tarso de las aves que fueron sacrificadas el día 21. Con estos dos datos, se obtuvo el valor promedio del diámetro de la diáfisis (DP), que se expresó en milímetros (mm) y se calculó con la siguiente fórmula:

$$DP = (DLL + DCC) / 2$$

- **Volumen de los huesos**

Se midió el volumen de los huesos: fémur, tibia y tarso (**Figura 4**) de las aves que fueron sacrificadas el día 21. Al medir el desplazamiento de agua con la ayuda de probetas graduadas se pudo determinar el volumen de cada hueso (cm<sup>3</sup>), luego que este fuera sumergido completamente en la probeta (Sato, 1995; Zhang *et al.*, 1997; Quarentelli et al, 2007).



**Figura 4. Medición del volumen del tarso**

- **Índice de forma (IF)**

Se determinó al dividir al largo del hueso entre el ancho del hueso, este índice nos indica cuantas veces el diámetro del hueso está contenido en el largo del mismo (Martínez, 2012).

$$\text{IF} = \text{Largo, mm} / \text{Ancho, mm}$$

#### **b. Indicadores de mineralización ósea**

- **Peso de los huesos**

Se pesaron los huesos: fémur, tibia y tarso de las aves que fueron sacrificadas el día 21, los huesos se pesaron individualmente utilizando una balanza electrónica con capacidad para 300 gramos y una aproximación de 0.01 gramos, su valor se presenta en miligramos (mg).

- **Densidad de los huesos**

La densidad del hueso se utiliza como uno de los indicadores más importantes para conocer el estado de salud del esqueleto (Almeida Paz *et al.*, 2008) y puede ser medida de forma directa (Martínez, 2012) como en el presente estudio, o con el uso de métodos que permitan su estimación, como la absorciometría de rayos-X de energía dual (DEXA) (Angel *et al.*, 2006).

Se calculó la densidad de los huesos: fémur, tibia y tarso de las aves que fueron sacrificadas el día 21. Se calculó empleando la siguiente fórmula (Rath *et al.*, 2000):

$$\text{Densidad (mg/cm}^3\text{)} = \text{Peso, mg} / \text{Volumen, cm}^3$$

- **Índice modificado de Seedor**

Propuesto inicialmente por Seedor *et al.* (1991), quién consideró los pesos de la ceniza del hueso, sin embargo en diferentes estudios (Monteagudo et al, 1997; Kocabagli, 2001; Mendes *et al.*, 2006; Moraes, 2006; Mutus *et al.*, 2006; Souza da Silva, 2010; Marques *et al.*, 2013) se ha utilizado una modificación en el que no interviene el peso de las cenizas del hueso, sino el peso del hueso. Se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice modificado de Seedor} = \text{Peso, mg} / \text{Largo, mm}$$

- **Índice Quetelet**

Este índice también llamado índice de masa corporal, fue propuesto por Adolphe Quetelet alrededor de 1740, y si bien la unidad estándar de  $\text{kg/m}^2$ , los valores reportados en  $\text{mg/mm}^2$ , son numéricamente idénticos; y cuanto mayor es el índice Quetelet, es hueso es relativamente más pesado pero a su vez corto, interpretación contraria recibe este índice cuando es menor (Martínez, 2012). Este índice ha sido utilizado en pollos de carne por Rutten *et al.* (2002). Se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice Quetelet (mg/mm}^2\text{)} = \text{Peso, mg} / (\text{Largo, mm})^2$$

- **Índice de robusticidad**

Este índice fue propuesto por Alphonse Riesenfeld en 1972, y se considera que cuanto mayor es este índice la estructura del hueso es menos fuerte (Martínez, 2012). Este índice ha sido utilizado en pollos de carne por Kocabagli (2001), Mutus *et al.* (2006) y por Somkuwar *et al.* (2010). Se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice de robusticidad} = \text{Largo, mm} / (\text{Peso, g})^{1/3}$$

### c. Mediciones de integridad esquelética

- **Capacidad para caminar**

El día 21 se evaluó de manera cualitativa la capacidad para caminar del ave, la evaluación se realizó antes del sacrificio. Se planteó el score propuesto por Kestin *et al.* (1992):

- |   |   |
|---|---|
| — 6: Normal.                            | — 3: Lesión evidente.                             |
| — 5: Defectos leves.                    | — 2: Gran dificultad para caminar.                |
| — 4: Anormalidad definida para caminar. | — 1: Incapacidad para sostenerse sobre sus patas. |

- **Necrosis de cabeza femoral**

El día 21 se evaluó la degeneración ósea del fémur de las aves sacrificadas, se siguió el procedimiento utilizado por Almeida Paz *et al.* (2008), estudio en el que se emplea el Índice de Degeneración Femoral, la escala va del 1 al 5, donde:

- 1: Hueso sin lesión.
- 2: El cartílago está ausente en la cabeza femoral y el hueso está intacto.
- 3: La cabeza femoral no tiene el cartílago y está parcialmente rota.
- 4: La cabeza femoral está considerablemente dañada pero su contorno está aún visible.
- 5: La cabeza del fémur está completamente rota y no es posible reconocer su contorno (lesión clínicamente conocida como epifisiólisis femoral proximal).



#### **d. Indicadores de importancia comercial**

- **Peso vivo**

Se realizó el pesado de los pollos el día 21 utilizando una balanza digital; los valores se presentan en gramos (g).

- **Rendimiento de carcasa**

Se calculó el porcentaje de carcasa con respecto al peso vivo de los pollos el día 21. Para determinar el peso de la carcasa, se consideró retirar la piel y las vísceras, excepto pulmones y riñones; con este procedimiento se calculó el rendimiento de carcasa en los estudios de Martínez (2012).

- **Rendimiento de pechuga**

Se calculó el rendimiento de la pechuga con respecto al peso vivo de los pollos el día 21. Para determinar el peso de la pechuga, se retiró la pechuga completa de la carcasa sin piel.

#### **e. Peso de estructuras**

Se determinó el peso de las siguientes estructuras: carcasa, pechuga, hígado, proventrículo junto a la molleja, intestinos, corazón, bazo y bursa.

#### **f. Coeficientes de crecimiento alométrico (CCA)**

Se determinó el coeficiente de crecimiento alométrico para las siguientes estructuras: carcasa, pechuga, hígado, proventrículo junto a la molleja, intestinos y corazón. Para la evaluación del crecimiento alométrico se determinaron los coeficientes respectivos empleando la siguiente fórmula (Fisher, 1984; citado por Cuervo *et al.*, 2002):

$$CCA = (PO_b / PO_a) / (PC_b / PC_a)$$

**Donde:**

**CCA** = coeficiente de crecimiento alométrico;

**PO** = peso del órgano o estructura a muestrear;

**PC** = peso corporal;

**a** = día de nacimiento;

**b** = días tras eclosión.

#### **3.8. Diseño estadístico**

Se empleó el Diseño Completo al Azar con tres tratamientos y cuatro repeticiones. El análisis de varianza se realizó aplicando el procedimiento ANOVA del programa Statistical Analysis System (SAS; SAS Institute, 2009) y para la diferencia de medias se empleó la prueba de Duncan. El Modelo Aditivo Lineal General aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij}$$

**Donde:**

**$Y_{ij}$**  = variable respuesta

**$U$**  = media general

**$T_i$**  = i-ésimo tratamiento ( $i = 1, 2, 3$ )

**$E_{ij}$**  = error experimental

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en cuadros de acuerdo al grado de relación entre variables y se dividieron en: características morfométricas, indicadores de mineralización ósea, mediciones de integridad esquelética, indicadores de importancia comercial, peso de estructuras, coeficientes de crecimiento alométrico y contenido de ceniza en tibia.

### a. Características morfométricas

Los resultados de las características morfométricas (largo, ancho, volumen e índice de forma) de los tres huesos se presentan en el **Cuadro 2** y en los **ANEXOS I, II, III y VI**.

- **Largo de los huesos**

Al evaluar tres niveles de la relación Ca:Pd, no se encontró diferencias significativas en el largo de los tres huesos (fémur, tibia y tarso;  $P>0.05$ ); resultados que concuerdan con Da silva *et al.* (2003), quienes tampoco encontraron diferencias significativas en el largo de la tibia cuando se modificó la relación Ca:Pd de 2.27 a 1.70 ( $P>0.05$ ).

Applegate y Lilburn (2002) reportaron longitudes de fémur y tibia de 49.00 y 67.20 mm respectivamente en un estudio con niveles de calcio y fósforo de acuerdo al requerimiento de la línea genética, y Ribeiro *et al.* (2011) en un estudio sobre el desarrollo del fémur, reporta un largo del fémur de 54.36 mm en pollos de 22 días cuya dieta cubría los requerimientos establecidos por la línea; ambas investigaciones presentaron promedios de largo de huesos que guardan relación a los promedios obtenidos del largo del fémur y de la tibia en el presente estudio (49.50 y 65.04 mm respectivamente).

**Cuadro 2. Efecto de la relación Ca:Pd sobre las características morfométricas.**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Largo del fémur, mm	48.86 <sup>a</sup>	49.63 <sup>a</sup>	50.01 <sup>a</sup>
Largo de la tibia, mm	63.98 <sup>a</sup>	65.10 <sup>a</sup>	66.04 <sup>a</sup>
Largo del tarso, mm	47.16 <sup>a</sup>	48.28 <sup>a</sup>	48.43 <sup>a</sup>
Ancho del fémur, mm	6.91 <sup>a</sup>	7.09 <sup>a</sup>	7.18 <sup>a</sup>
Ancho de la tibia, mm	5.79 <sup>a</sup>	5.97 <sup>a</sup>	5.85 <sup>a</sup>
Ancho del tarso, mm	6.53 <sup>a</sup>	6.37 <sup>a</sup>	6.25 <sup>a</sup>
Volumen del fémur, cm <sup>3</sup>	2.30 <sup>a</sup>	2.40 <sup>a</sup>	2.44 <sup>a</sup>
Volumen de la tibia, cm <sup>3</sup>	2.73 <sup>a</sup>	3.02 <sup>a</sup>	2.90 <sup>a</sup>
Volumen del tarso, cm <sup>3</sup>	1.97 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>	2.02 <sup>a</sup>
Ind. de forma del fémur, mm/mm	7.10 <sup>a</sup>	7.02 <sup>a</sup>	6.99 <sup>a</sup>
Ind. de forma de la tibia, mm/mm	11.06 <sup>a</sup>	10.97 <sup>a</sup>	11.34 <sup>a</sup>
Ind. de forma del tarso, mm/mm	7.25 <sup>b</sup>	7.58 <sup>ab</sup>	7.81 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra ( $P < 0.05$ ).

La tibia, particularmente al final de la epífisis, ha sido ampliamente estudiada debido a la sensibilidad celular a numerosas deficiencias en la dieta (Leach y Lilburn, 1992) y a su alta tasa de crecimiento en comparación con otros huesos largos (Buckner *et al.*, 1950); además, la tibia es el hueso más largo y el que tiene la tasa de crecimiento más alta en comparación con el fémur y el tarso; este largo está estrechamente relacionado al peso del animal y este a su vez influenciado por el sexo, es decir los machos al tener un mayor peso, tienen por tanto un mayor largo de los huesos de la pierna (Buckner *et al.*, 1950).

Williams *et al.* (2000a) hicieron un estudio en el que comparaban la morfometría de la tibia en dos líneas genéticas de pollos de engorde (línea del año 1972 y una línea actual), encontrando que existe una diferencia significativa en el largo de este hueso con respecto a la línea genética; a los 18 días reportaron una longitud de 72 y 63 mm para las líneas genéticas de 1972 y la moderna respectivamente, concluyendo que la longitud de este hueso ha disminuido significativamente con el paso del tiempo.

- **Ancho de los huesos**

No se encontró diferencias significativas en el ancho de los tres huesos evaluados ( $P > 0.05$ ) al evaluar 3 niveles de relación calcio y fósforo; en estudios recientes (Marques *et al.*, 2013) se corroboró el resultado obtenido en el presente estudio, pues no hubo diferencias significativas en el ancho de la tibia cuando se trabajó con pollos de 21 días de edad y con niveles de vitamina D ( $P > 0.05$ ); además, se encontró valores numéricos en promedio de 6.13 y 5.50 mm para ancho de fémur y tibia respectivamente, valores que difieren en pequeña proporción a los encontrados en el presente estudio (7.06 y 6.00 mm para fémur y tibia respectivamente), talvez por el lugar de medición en la diáfisis de los huesos evaluados.

Valores numéricos similares del ancho de los huesos fueron encontrados por Applegate y Lilburn (2002), quienes para el ancho del fémur encontraron valores de 5.86 mm y para el ancho de la tibia encontraron valores de 5.47 mm; en el mismo año, Rutten *et al.* (2002) reportaron valores promedio del ancho de la tibia de 5.45 mm con una dieta cuya relación Ca:Pd era la adecuada; más adelante Ribeiro *et al.* (2011) en un estudio sobre el desarrollo del fémur, reportaron valores del ancho del fémur en pollos de 22 días de 5.35 mm usando una dieta que cubría los requerimientos nutricionales de calcio y fósforo en la dieta.

Williams *et al.* (2000a) hicieron un estudio en el que comparaban la morfometría de la tibia en dos líneas genéticas de pollos de engorde (línea del año 1972 y una línea actual), encontrando que existe una diferencia significativa en el ancho de este hueso con respecto a la línea genética; a los 18 días reportaron una longitud de 5.0 y 3.8 mm para las líneas

genéticas de 1972 y la moderna respectivamente, indicativo de la reducción significativa del ancho de este hueso con el paso del tiempo.

- **Volumen de los huesos**

El volumen de los tres huesos evaluados, no demostraron ser afectados estadísticamente ( $P>0.05$ ) por las relaciones de Ca:Pd utilizadas en el presente estudio; Quarantelli *et al.* (2007) tampoco encontraron diferencias significativas en el volumen de la tibia cuando usaron diferentes niveles de biotina en sus tratamientos.

En este trabajo también se encontró que el volumen de la tibia es, numéricamente, mayor que el volumen del fémur, y este a su vez es mayor que el volumen del tarso; esta tendencia se observó en todas las relaciones de Ca:Pd utilizadas.

- **Índice de forma de los huesos:**

En el índice de forma del fémur y de la tibia, no se encontraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ), pero sí se encontró diferencia significativa en el índice de forma del tarso ( $P<0.05$ ); así, existe diferencia estadística entre el Tratamiento 3 y el 1, mas no entre los Tratamientos 1 y 2, o entre los Tratamientos 2 y 3.

#### **b. Indicadores de mineralización ósea**

Los indicadores de mineralización ósea (peso, densidad, índice de Seedor, índice Quetelet e índice de robusticidad de los huesos) se presentan en el **Cuadro 3** y en los **ANEXOS IV, V, VII, VIII y IX.**

- **Peso de los huesos**

El peso de los tres huesos no presentó diferencias significativas entre las dietas experimentales ( $P>0.05$ ); sin embargo, cabe destacar que el peso del fémur y el peso de la tibia tuvieron un valor de P igual a 0.0739 y 0.0554, respectivamente, lo que indica una influencia (no significativa con un valor de alfa de 0.05) de los tratamientos sobre estas dos variables; afirmación que además concuerda con la investigación de Da Silva *et al.* (2003) quienes observaron en pollos de 21 días de edad que el peso de la tibia disminuye significativamente cuando se modifica la relación Ca:Pd desde 2.27 hasta 1.70. Valores numéricos similares del peso del fémur y de la tibia fueron reportados por Applegate y Lilburn (2002), quienes obtuvieron valores de 1670 mg y 2360 mg respectivamente.

**Cuadro 3. Efecto de la relación Ca:Pd sobre indicadores de mineralización**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Peso del fémur, mg	1474.00 <sup>a</sup>	1625.25 <sup>a</sup>	1699.25 <sup>a</sup>
Peso de la tibia, mg	1908.50 <sup>a</sup>	2186.25 <sup>a</sup>	2243.38 <sup>a</sup>
Peso del tarso, mg	1329.50 <sup>a</sup>	1433.63 <sup>a</sup>	1422.75 <sup>a</sup>
Densidad del fémur, mg/cm <sup>3</sup>	645.37 <sup>a</sup>	679.98 <sup>a</sup>	697.34 <sup>a</sup>
Densidad de la tibia, mg/cm <sup>3</sup>	708.18 <sup>b</sup>	730.75 <sup>ab</sup>	783.16 <sup>a</sup>
Densidad del tarso, mg/cm <sup>3</sup>	675.74 <sup>a</sup>	726.89 <sup>a</sup>	710.05 <sup>a</sup>
Ind. de Seedor del fémur	30.13 <sup>a</sup>	32.70 <sup>a</sup>	33.91 <sup>a</sup>
Ind. de Seedor de la tibia	29.80 <sup>a</sup>	33.56 <sup>a</sup>	33.90 <sup>a</sup>
Ind. de Seedor del tarso	28.25 <sup>a</sup>	29.74 <sup>a</sup>	29.35 <sup>a</sup>
Ind. Quetelet del fémur	0.62 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>
Ind. Quetelet de la tibia	0.47 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>
Ind. Quetelet del tarso	0.60 <sup>a</sup>	0.62 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
Ind. de robusticidad del fémur	4.30 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>	4.20 <sup>a</sup>
Ind. de robusticidad de la tibia	5.16 <sup>a</sup>	5.02 <sup>a</sup>	5.06 <sup>a</sup>
Ind. de robusticidad del tarso	4.29 <sup>a</sup>	4.28 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra ( $P<0.05$ ).



En una investigación reciente, Ribeiro *et al.* (2011) evaluaron el desarrollo del fémur, y a los 22 días, en pollos alimentados con una dieta que cubría los requerimientos propuestos por la línea, reportaron un peso de 4640 mg para el fémur, valor que no concuerda con el peso del fémur que se obtuvo en la presente investigación (1599.50 mm en promedio), debido tal vez a que se usó un método diferente para el procesamiento del hueso o un protocolo distinto para la extracción de grasa del mismo.

- **Densidad de los huesos**

La densidad del fémur y del tarso no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ), pero sí la densidad de la tibia ( $P<0.05$ ); con respecto a esta variable, no hay diferencias significativas entre los Tratamientos 1 y 2 ni entre los Tratamientos 2 y 3, pero sí entre los Tratamientos 1 y 3; por tanto esta variable solo se vió afectada cuando la relación Ca:Pd se encontró por debajo de 1.55.

Al respecto, Da Silva *et al.* (2003) encontraron que la densidad de la tibia disminuye significativamente ante un cambio en la relación Ca:Pd, así encontraron esta tendencia cuando se cambió la relación Ca:Pd de 2.27 a 1.70 en pollos de la línea Cobb 500; sin embargo, ante el mismo cambio en la relación Ca:Pd, los pollos de la línea Avian Farms no mostraron diferencia significativa en cuanto a esta variable; se presume que los pollos de esta línea en comparación con los de la línea Cobb 500, tuvieron un menor requerimiento de minerales, o talvez por la baja tasa de crecimiento inicial de los pollos Avian Farms.

- **Índice modificado de Seedor de los huesos:**

En el presente estudio, no se encontró diferencias significativas entre los Tratamientos ( $P>0.05$ ) en los 3 huesos estudiados (fémur, tibia y tarso); resultados que fueron corroborados en investigaciones recientes (Marques *et al.*, 2013) en donde se evaluó este índice en un estudio en el que se incorporaban diferentes metabolitos de la vitamina D, no encontrándose diferencias significativas entre las dietas que contenían 4 tipos de

metabolitos; en relación a este punto, los autores presumen que el peso y el largo están estrechamente relacionados en su desarrollo, al menos durante las primeras semanas de vida.

La diferencia entre usar un hueso al cual se le ha extraído la grasa y uno en fresco, hace la diferencia en cuanto a los valores numéricos que se obtienen; así, Souza da Silva (2010) reporta valores del índice de Seedor de 101.98 mg/mm para el fémur y de 96.21 mg/mm para la tibia en pollos de engorde de 21 días, valores que no concuerdan con lo obtenido en el presente estudio (32.25 y 32.42 mg/mm para el fémur y tibia respectivamente); del mismo modo ocurrió con los estudios de Marques *et al.* (2013), quienes reportaron los valores de 85.58 y 90.44 para el fémur y la tibia, respectivamente.

Mutus *et al.* (2006) reportan valores de 77.22 mg/mm para este índice evaluando la tibia, empleando en su investigación una relación Ca:Pd de 2; los datos no concuerdan con los obtenidos en el presente estudio puesto que los valores fueron obtenidos de pollos de 6 semanas de edad; estos autores sí extrajeron la grasa de los huesos antes de hacer las mediciones respectivas, como en el presente estudio.

- **Índice Quetelet de los huesos**

En el presente estudio no se encontró diferencias significativas en los 3 huesos evaluados con respecto al índice Quetelet ( $P > 0.05$ ); sin embargo, cabe destacar que el índice Quetelet del fémur presentó un valor de P igual a 0.0811 y el índice Quetelet de la tibia presentó un valor de P igual a 0.0756; lo que es indicativo de una influencia (no significativa con un valor de alfa de 0.05) de los tratamientos sobre estas dos variables.

Rutten *et al.* (2002) reportaron valores de 1.66 y 1.19 mg/mm<sup>2</sup> para el fémur y la tibia respectivamente, valores que no concuerdan con los reportados en el presente estudio (0.66 y 0.50 mg/mm<sup>2</sup> para el fémur y tibia respectivamente), debido a que en esa investigación

se utilizó un método diferente para la extracción de grasa de los huesos (congelamiento de los huesos, puestos en éter por 24 horas y secados por 12 horas).

Recientemente y en donde se utilizó una técnica similar para el proceso de extracción de grasa a los huesos, Martínez (2012) reporta valores de 0.43, 0.33 y 0.41 mg/mm<sup>2</sup> en promedio de este índice para el fémur, tibia y tarso respectivamente, en pollos de engorde de 14 días, datos que concuerdan con el presente estudio considerando que estos animales tuvieron menor edad y por tanto un menor desarrollo esquelético.

- **Índice de robusticidad de los huesos:**

En el presente estudio el índice de robusticidad no presenta diferencias significativas en los 3 huesos, de lo que se deduce que la relación Ca:Pd no influye sobre estas variables. Kocabagli (2001) reporta valores del índice de robusticidad de la tibia de 5.10 mm/g<sup>(1/3)</sup>, valor que corrobora lo obtenido en el presente estudio (5.08 mm/g<sup>(1/3)</sup> en promedio); además, Mutus *et al.* (2006), reportan un valor de 4.98 mm/g<sup>(1/3)</sup> de este índice para la tibia, valor que es numéricamente similar al obtenido en el presente estudio.

En estudios recientes, Somkuwar *et al.* (2010) sí encontraron diferencias significativas en este índice evaluado en la tibia, entre una dieta control y dos dietas con fitasas (4.27, 3.91 y 4.19 mm/g<sup>(1/3)</sup> respectivamente), demostrando que la variación Ca:Pd sí influye en esta variable, cuando en la dieta se modifican los niveles de fósforo disponible.

### **c. Indicadores de integridad esquelética**

Los resultados de la capacidad para caminar y la patología conocida como necrosis de cabeza femoral se presentan en el **Cuadro 4** y en el **ANEXO XIII**.

Al evaluar la capacidad para caminar, se encontró diferencia estadística ( $P < 0.05$ ); así, el Tratamiento 3 tuvo diferencia estadística con el Tratamiento 1, mas no con el Tratamiento 2 y el Tratamiento 2 no tuvo diferencias significativas ni con el Tratamiento 1 ni con el 3, por lo que se deduce que la capacidad para caminar se ve afectada cuando la relación Ca:Pd se encuentra por debajo de 1.55.

**Cuadro 4. Efecto de la relación Ca:Pd sobre la integridad esquelética**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Capacidad para caminar	4.20 <sup>b</sup>	4.91 <sup>ab</sup>	5.25 <sup>a</sup>
Necrosis de cabeza femoral	1.00 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado, la patología conocida como necrosis de cabeza femoral no presentó diferencias significativas entre los Tratamientos ( $P > 0.05$ ), y en los tres tratamientos no se presentaron casos severos de esta patología. En un experimento de campo, se demostró los beneficios potenciales de la combinación entre las patologías óseas como complemento al análisis de contenido mineral (Thorp y Waddington, 1997), en ese estudio se presentó un incremento del contenido de ceniza en tibia en aves que presentaron necrosis de cabeza femoral (condición que disminuye cualquier parámetro productivo), los investigadores llegaron a la conclusión de que no necesariamente un indicativo de buena mineralización es el contenido de ceniza en hueso, ya que esta variable necesita ser complementada además con indicadores de integridad esquelética para estar seguros de que la parvada cuente con una adecuada salud esquelética.

La incidencia de problemas de patas en pollos de rápido crecimiento puede ser afectado por el contenido mineral de la dieta (Nelson *et al.*, 1990), así un nivel adecuado de calcio, reduce significativamente los problemas a nivel de patas (Thorp y Waddington, 1997); además, Takita (1998) concluye que pollos de engorde que presentaron un rápido

crecimiento durante la fase inicial son más propensos a desarrollar anomalías del sistema locomotor y pollos con una baja en la relación Ca:Pd presentaron evidencia histológica de raquitismo (Thorp y Waddington, 1997), estos fueron más susceptibles a presentar problemas de patas y la causa probable es una inadecuada relación Ca:Pd que altere la estructura del cristal formador de la hidroxiapatita, debilitando el hueso y contribuyendo a fracturas óseas.

#### **d. Indicadores de importancia comercial**

Los resultados de peso vivo, porcentaje de carcasa y porcentaje de pechuga se presentan en el **Cuadro 5** y en el **ANEXO X**.

Bajo las condiciones en las que se realizó la presente investigación, se encontró solo diferencias numéricas entre los Tratamientos con respecto al peso vivo, estas diferencias indican que más peso tuvieron los animales del tratamiento 3 (Relación Ca:Pd de 1.98), pero no se pudo atribuir esa diferencia de peso a los Tratamientos ( $P > 0.05$ ); resultados similares encontraron Smith *et al.* (2003) cuando utilizaron dos relaciones de Ca:Pd (1.82 y 1.92), en ese estudio la ganancia diaria de peso no fue influenciada por los Tratamientos empleados, atribuyendo el resultado a que el contenido de calcio y fósforo en la dieta afecta en mayor medida a la mineralización ósea. Sin embargo, en otros estudios se demostró que el peso vivo sí es afectado por la relación Ca:Pd; así, una relación Ca:Pd de 2.4 (Ca, 1.2 y Pd, 0.5) mostró el mayor peso vivo ( $P < 0.05$ ) en comparación con las relaciones Ca:Pd de 1.2, 1.8, 3.6 y 4.8 (Nelson *et al.*, 1990) y estos hallazgos fueron corroborados posteriormente por Yan *et al.* (2005b) quienes encontraron diferencias significativas en el peso de los animales ( $P < 0.05$ ) cuando modificaron la relación Ca:Pd desde 1.30 hasta 2.50, con la relación Ca:Pd de 1.30 se obtuvo el mayor peso frente a las otras relaciones, considerando que una baja del nivel de fósforo en la dieta es la que afecta negativamente la performance del animal.

El porcentaje de carcasa y el porcentaje de pechuga tampoco presentaron diferencias significativas entre los Tratamientos ( $P > 0.05$ ); parece ser que estas variables se ven

afectadas estadísticamente si el peso vivo es afectado, ya que en los pollos de engorde modernos hay una alta correlación entre estas tres variables (Zuidhof, 2005; Raji et al., 2010; Cobb, 2012; Pandurević et al., 2014).

**Cuadro 5. Efecto de la relación Ca:Pd sobre el peso vivo e indicadores comerciales**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Peso vivo, g	876.80 <sup>a</sup>	907.88 <sup>a</sup>	925.10 <sup>a</sup>
% de carcasa, %	71.56 <sup>a</sup>	69.85 <sup>a</sup>	73.31 <sup>a</sup>
% de pechuga, %	20.47 <sup>a</sup>	20.59 <sup>a</sup>	21.34 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Promedios iguales estadísticamente comparten la misma letra ( $P>0.05$ ).

#### e. Peso de estructuras

El peso de estructuras (de carcasa, pechuga, hígado, proventrículo junto a la molleja [P+M], intestino, corazón, bursa y bazo) se presentan en el **Cuadro 6** y en los **ANEXOS XI y XII**.

El peso de las estructuras no fue afectado significativamente por los Tratamientos ( $P>0.05$ ), en este punto cabe mencionar que el peso del hígado tuvo un valor de P igual a 0.0594, que es indicativo de una influencia (no significativa cuando alfa es 0.05) de los Tratamientos sobre esta variable.

Con respecto al corazón, bursa y bazo, se observa que no hay relación directa entre los valores obtenidos y los tratamientos; al parecer, estas estructuras crecen y se desarrollan por factores genéticos más que por factores nutricionales (Zuidhof *et al.*, 2014).

**Cuadro 6. Efecto de la relación Ca:Pd sobre el peso de estructuras**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Carcasa, g	624.40 <sup>a</sup>	645.87 <sup>a</sup>	678.28 <sup>a</sup>
Pechuga, g	178.52 <sup>a</sup>	190.69 <sup>a</sup>	197.90 <sup>a</sup>
Hígado, g	23.07 <sup>a</sup>	23.36 <sup>a</sup>	25.04 <sup>a</sup>
P+M <sup>1</sup> , g	39.08 <sup>a</sup>	37.82 <sup>a</sup>	38.85 <sup>a</sup>
Intestinos, g	66.34 <sup>a</sup>	69.65 <sup>a</sup>	73.87 <sup>a</sup>
Corazón, g	6.24 <sup>a</sup>	5.95 <sup>a</sup>	6.36 <sup>a</sup>
Bursa, g	2.43 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	2.34 <sup>a</sup>
Bazo, g	0.94 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Promedios iguales estadísticamente comparten la misma letra ( $P>0.05$ ).

<sup>1</sup>P+M: Proventrículo más la molleja

#### f. Coeficientes de crecimiento alométrico (CCA)

Los coeficientes de las estructuras corporales estudiadas se presentan en el **Cuadro 7** y en el **ANEXO XIV**.

Bajo las condiciones del presente estudio, se observa que variables relacionadas con el crecimiento alométrico no guardan relación directa con la variación de Ca:Pd en la dieta ( $P>0.05$ ), esta situación es influenciada por la genética (Zuidhof *et al.*, 2014) y por el nivel adecuado de energía y proteína según la edad o estado fisiológico del ave (Cuervo *et al.*, 2002).

Solo los CCA de carcasa, intestino y pechuga son mayores a uno, es decir, el crecimiento de estas estructuras se da a una tasa mayor que el incremento del peso del animal. El CCA de la pechuga es en promedio 6.56; es decir, la pechuga incrementa su peso seis veces más de lo que se incrementa el peso del animal; esto gracias al avance genético, que por muchos años ha priorizado esta característica como criterio de selección en la progenie de los reproductores (Zuidhof *et al.*, 2014).

Los CCA del hígado, del proventrículo junto a la molleja (P+M) y del corazón son menores a uno, es decir, incrementan su peso a una tasa menor de la que se incrementa el peso del animal; con lo que se podría explicar los problemas actuales, como los desórdenes metabólicos.

**Cuadro 7. Efecto de la relación Ca:Pd sobre los coeficientes de crecimiento alométrico**

Variables	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
CCA <sup>1</sup> de la carcasa	1.27 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a</sup>	1.31 <sup>a</sup>
CCA de la pechuga	6.39 <sup>a</sup>	6.59 <sup>a</sup>	6.69 <sup>a</sup>
CCA del hígado	0.93 <sup>a</sup>	0.91 <sup>a</sup>	0.96 <sup>a</sup>
CCA del P+M <sup>2</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.71 <sup>a</sup>	0.71 <sup>a</sup>
CCA de los intestinos	1.66 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>
CCA del corazón	0.97 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.94 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Promedios iguales estadísticamente comparten la misma letra ( $P>0.05$ ).

<sup>1</sup>CCA: coeficiente de crecimiento alométrico; <sup>2</sup>P+M: Proventrículo más la molleja

#### **g. Contenido de ceniza en tibia**

El contenido de ceniza en tibia se presenta en el **Cuadro 8** y en el **ANEXO XV**. Se observa diferencias significativas entre los tres Tratamientos; el Tratamiento 3 es mayor significativamente que el Tratamiento 2, y este a su vez mayor que el Tratamiento 1 ( $P<0.05$ ); por tanto, se confirma que el contenido de ceniza en tibia es altamente sensible a la variación en la relación Ca:Pd y es la variable más usada en estudios de minerales como el calcio y fósforo (Ammerman *et al.*, 1961; Dilworth y Day, 1965; Ammerman *et al.*, 1995; Pintar *et al.*, 2004; Acosta *et al.*, 2009; Chung *et al.*, 2013; Walk *et al.*, 2014; Uculmana *et al.*, 2015b); además, Yan *et al.* (2005b) también modificaron la relación Ca:Pd desde 1.30 hasta 2.50, estos investigadores reportaron valores de ceniza en tibia en un rango de 29.94 hasta 41.32 % con las relaciones Ca:Pd de 1.30 y 2.50 respectivamente.



En las investigaciones se ha utilizado la máxima mineralización como un criterio para determinar el requerimiento de fósforo y calcio de las aves; sin embargo, lo razonable es encontrar una relación Ca:Pd que produzca un máximo crecimiento, una máxima transformación del alimento y una adecuada, pero no necesariamente máxima, mineralización ósea (Alaeldein, 2012).

**Cuadro 8. Efecto de la relación Ca:Pd sobre el contenido de ceniza en tibia**

Variable	Relación Ca:Pd		
	1.13	1.55	1.98
Contenido de ceniza en tibia, %	41.83 <sup>c</sup>	44.12 <sup>b</sup>	45.51 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup> Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra ( $P < 0.05$ ).

En estudios previos (Thorp y Waddington, 1997) se muestra la utilidad de evaluar patologías del hueso como complemento al contenido de ceniza para medir el estatus esquelético en pollos de engorde, brindando más información para llegar a una solución adecuada, se demostró que aves que contenían más contenido de ceniza en el hueso fueron además aves que presentaron mayor incidencia de necrosis de cabeza femoral; el aumento de la ceniza en las aves con esta patología puede indicar menos modelado y remodelado óseo, que al ser un desorden en el desarrollo normal del tejido óseo, también ocasiona patologías en el animal; por otro lado, Angel (2007) menciona que una pobre mineralización está asociada a un incremento de fracturas y por lo tanto de cojera, por lo que una adecuada mineralización ósea debe dar las facilidades al pollo de engorde para que afronte problemas esqueléticos.

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo el experimento de Driver *et al.* (2005) se comprobó que la relación calcio a fósforo disponible de 1.39 fue la que mostró la mayor respuesta productiva en función del peso; sin embargo, el máximo contenido de ceniza en tibia se consiguió con la relación calcio a fósforo de 2, motivo por el cual los autores sugieren que existen dos requerimientos de calcio, uno para la máxima respuesta productiva y otro para una máxima mineralización en términos de contenido de ceniza en

tibia, cabe mencionar que en este estudio el nivel de fósforo en la dieta fue el adecuado y solo se modificó el nivel de calcio en la dieta, al igual que en el presente estudio; esta observación también la hicieron Bar *et al.* (2003) quienes destacan la capacidad de adaptación de los pollos de engorde modernos a bajos niveles de calcio y fósforo en la dieta; estos autores completan su estudio concluyendo que el requerimiento de fósforo es similar para obtener la máxima respuesta productiva y la máxima mineralización, pero el requerimiento de calcio es menor para obtener la máxima respuesta productiva en comparación con un nivel mayor de calcio para obtener una mayor mineralización en función al contenido de ceniza en tibia.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se concluye lo siguiente:

La mayor respuesta productiva en función del peso, una morfometría ósea adecuada y la máxima mineralización se obtuvo con una relación calcio a fósforo disponible de 1.98.

El contenido de ceniza en tibia fue la variable más sensible a cambios en relación Ca:Pd, mientras que indicadores de morfometría (el índice de forma del tarso y la densidad de la tibia) e integridad ósea (la capacidad para caminar) solo son afectados cuando la relación Ca:Pd está por debajo 1.55.

El peso del animal y variables relacionadas con el crecimiento alométrico no fueron influenciadas por cambios en la relación Ca:Pd.

## **VI. RECOMENDACIONES**

De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

Usar la relación calcio a fósforo disponible de 1.98 para obtener la mayor respuesta productiva en función del peso, una adecuada morfometría ósea y la máxima mineralización.

Usar la morfometría ósea y la integridad esquelética en estudios relacionados con calcio y fósforo, complementando al uso del contenido de ceniza en tibia.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, A.; LON-WO, E.; CÁRDENAS, M.; FEBLES, M.; DIEPPA, O. Y ALMEIDA, M. 2009. Determinación de la biodisponibilidad relativa del fósforo en la fosforita del yacimiento Trinidad de Guedes, mediante pruebas de crecimiento y mineralización ósea en pollos y gallinas ponedoras. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 43, Número 1, 2009.

AJIBADE D., B. S. BENN, AND S. CHRISTAKOS. 2010. Mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on intestinal calcium absorption and renal calcium transport. In: Holick MF, Eds. Vitamin D: Physiology, molecular biology, and clinical applications. New York. Human Press.

ALAELEIN M., ABUDABOS. 2012. Optimal dietary phosphorus for broiler performance, bone integrity and reduction of phosphorus excretion. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 7: 288-298.

ALMEIDA PAZ I. C. L.; BRUNO L. D. G. 2006. Bone mineral density: Review. Brazilian Journal of Poultry Science. 8: 69-73.

ALMEIDA PAZ I. C.L.; MENDES A.A.; BALOG A.; VULCANO L. C.; BALLARIN A.W.; ALMEIDA I. C. L; TAKAHASHI S. E.; KOMIYAMA C. M.; SILVA M.C.; CARDOSO K. F. G. 2008. Study on the bone mineral density of broiler suffering femoral joint degenerative lesions. Brazilian Journal of Poultry Science, 10: 103-108.

ALVARADO, M. 2007. Sangre y coagulación. (En línea) Consultado el 14 de Noviembre del 2014: <http://www.scribd.com/doc/6745057/Sangre-y-Coagulación>.

AMMERMAN, C.; DOUGLAS. C.; DAVIS, G. Y HARMS, R. 1961. Comparison of phosphorus availability assay and techniques for chicks. *Poult. Sci.* 40:548.

AMMERMAN, C.B.; D. H. BAKER, A. J. LEWIS. 1995. Bioavailability of nutrients for animals: Amino Acids, Minerals, and vitamins. Academic Press. San Diego.

ANGEL R.; SAYLOR W. W.; MITCHELL A. D.; POWERS W.; APPLGATE T. J. 2006. Effect of dietary phosphorus, phytase, and 25-hydroxycholecalciferol on broiler chicken bone mineralization, litter phosphorus, and processing yields. *Poultry Science.* 85: 1200–1211.

ANGEL R. 2007. Metabolic Disorders: Limitations to Growth of and Mineral Deposition in to Broiler Skeleton after Hatch and Potential Implications for Leg Problems. *J. Appl. Poult. Res.* 16: 138-149.

APPLGATE T. J. Y LILBURN M. S. 2002. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry Science.* 81: 1289-1294.

ANSAR, M., S. A. KHAN, Z. I. CHAUDHARY, N. A. MIAN, M. Y. TIPU, AND M. F. RAI. 2004. Effects of high dietary calcium and low phosphorus on urinary system of broiler chicks. *Pakistan Vet. J.* 24:113-116.

BAR A.; D. SHINDER; S. YOSEFI; E. VAX; I. PLAVNIK. 2003. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. *British Journal of Nutrition.* 89: 51-60.

BARKLEY G. R.; MILLER H. M. Y J. M. FORBES. 2004. The ability of laying hens to regulate phosphorus intake when offered two feed containing different levels of phosphorus. *Br. J. Nutr.* 92: 233-240.

BARREIRO, F. R., A. L. SAGULA, O. M. JUNQUEIRA, G. T. PEREIRA, AND S. M. BARALDI-ARTONI. 2009. Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. *Poult. Sci.* 88:2644-2648.

BAUMEL J. J.; WITMER L. M. Osteologia. In: BAUMEL J. J.; KING A. S.; BREAZILE J. E.; EVANS H. E.; VANDEN BERGE J. C. 1993. Handbook of avian anatomy: Nomina anatomica avium. Second Edition. Publication N° 23 of the Nuttall Ornithological Club, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Massachusetts, USA.

BONSER, RH; CASINOS, A. 2003. Regional variation in cortical bone properties from broiler fowl – a first look. *Br. Poult. Sci.* 44(3): 350-354.

BOWES, V.A.; JULIAN, R.J. 1988. Organ weights of normal broiler chickens and those dying of sudden death syndrome. *Can. Vet. J.* 29: 153-156.

BRUNO L. D. G. 2002. Desenvolvimento óseo em pollos de engorde: influencia de la restricción de alimento y la temperatura ambiente. Tesis para optar el grado de Mg. Sc. Universidad Estatal Paulista, Brasil.

BUCKNER, G. D., W. M. INSKO, JR., A. HARMS-HENRY, AND E. FAULL-WACHS. 1950. The comparative rates of growth and calcification of the femur, tibia and metatarsus bones of the male and female New Hampshire chicken having straight keel. *Poult. Sci.* 29:332–335.

CANO, F.G. 2009. Anatomía interactiva de las aves: aspectos funcionales y clínicos. Depósito legal MU-2107-2009, ISBN: 978-84-8425-744-8, Murcia-España.

CASSIS, C. 1984. Metabolismo del calcio y del fósforo. Conferencia presentada en el curso "Presente y futuro del paciente nefrológico". Universidad del Norte. Barranquilla, Colombia.

CASSIUS, J. 2005. The influence of calcium intake by broiler breeders on bone development and egg characteristics. Thesis Tesis Philosophiae Doctor (Ph.D.). Departamento de Animales, Ciencias de la vida silvestre y de pastizales. Universidad del Estado Libre, Bloemfontein, República de Sudáfrica. 233 Pág.

CHRISTAKOS, S., P. DHAWAN, A. PORTA, L. J. MADY, AND T. SETH. 2011. Vitamin D and intestinal calcium absorption. *Mol. Cell. Endocrinol.* 347:25-29.

CHUNG T. K.; S.M. RUTHERFURD , D.V. THOMAS Y P.J. MOUGHAN. 2013. Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers, *British Poultry Science.* 54(3): 362-373.

COBB 500<sup>TM</sup>. 2012. Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de engorde.

COOK M.E. 2000. Skeletal deformities and their causes: introduction. *Poultry Science* 79: 982-984.

CRESPO, R., AND H. L. SHIVAPRASAD. 2003. Developmental, metabolic and other noninfectious disorders. Pages 1055–1102 in *Diseases of Poultry*. 11th rev. ed. Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Iowa State Press, Ames, IA.

CUERVO, M; GÓMEZ, C; ROMERO, H. 2002. Efecto de la utilización de un suplemento nutricional hidratado en pollos de engorde recién nacidos. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 15(3): 319-329.



DA SILVA A., C.S.; BARALDI A., S. M.; FRANCELINO A., L; QUIRINO L., M.F.; MACK J., O; ROQUE R., A.I. 2003. Bone development of broiler chickens fed diets with different amino acid and calcium levels during the starter phase. *Int. J. Morphol.* 21: 101-106.

DAMRON, B.L. & FLUNKER, L.K., 1995. Calcium supplementation of hen drinking water. *Poult. Sci.* 74: 784-787.

DHANDU, A. S. y R. ANGEL. 2003. Broiler non-phytin phosphorus requirement in the finisher and withdrawal phases of a commercial four-phase feeding system. *Poult. Sci.* 82:1257–1265.

DIBARTOLA, S. 2000. *Terapia de líquidos en pequeñas especies.* McGraw\_Hill Interamericana. México. 115-162 Pág.

DILWORTH, B.C. y E. J. DAY. 1965. Effect of varying dietary calcium:phosphorus ratios on tibia and femur composition of the chick. *Poultry Science.* 44: 1474-1479.

DRIVER J. P.; G. M. PESTI; R. I. BAKALLI; H. M. EDWARDS Jr. 2005. Calcium Requirements of the Modern Broiler Chicken as Influenced by Dietary Protein and Age. *Poultry Science* 84: 1629-1639.

DUDEK, S.G. 1997. *Nutrition Handbook for nursing practice (Third Edition).* Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, USA. 127-130 Pág.

DURAIRAJ, V. 2008. Femoral head disarticulation disorder in chickens. Thesis dissertation at University of Arkansas.

FERNANDES, J. I. M.; LIMA, F. R.; MENDONCA, J. R.; MABE, I.; ALBUQUERQUE, R.; LEAL, P. M. 1999. Relative Bioavailability of Phosphorus in Feed and Agricultural Phosphates for poultry. *Poultry Science* 78: 1729-1736.

FLEET, J. C., AND R. D. SCHOCH. 2010. Molecular mechanisms for regulation of intestinal calcium absorption by vitamin D and other factors. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 47:181-95.

GARCÍA, A. 2003. Homeostasis del calcio durante procesos reproductores. Conferencia de la Real Academia de Ciencias Veterinarias. (En línea) consultado el 12 de Noviembre del 2014. <http://www.racve.es/ciencias-básicas/2003-11-19AngelesGarciaPascual.htm>.

GILLIS, M. B.; NORRIS, L. C. Y HEUSER, G. F. 1954. Studies on the biological value of inorganic phosphates. *J. Nutrición.* 52:115.

GOULD, S. J. 1966. Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biological Reviews*, 41: 587–638.

HAND, M.; C. THATCHER; R. REMILLARD Y P. ROUDEBUSH. 2000. Nutrición clínica en pequeños animales. Editorial Inter. – Médica S.A.I.C.I. Buenos Aires. República de Argentina. 76-93 Pág.

HURWITZ, S., I. PLANK, A. SHAPIRO, E. WAY, H. TALPAZ, AND A. BAR. 1995. Calcium metabolism and requirement of chickens are affected by growth. *J. Nutr.* 125:2679–2686.

JULIAN, R. J. 1984. Valgus-varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. *Can. Vet. J.* 25(6):254-258.

KESTIN S. C.; T. G. KNOWLES; A. E. TINCH; N.G. GREGORY. 1992. Prevalence of leg weakness in broiler chickens and its relationship with genotype. *Veterinary Record* 131(9): 190-194.

KESTIN, S. C., G. SU, AND P. SORENSEN. 1999. Different commercial broiler crosses have different susceptibilities to leg weakness. *Poult. Sci.* 78:1085–1090.

KESTIN, S. C., S. GORDEN, G. SU, AND P. SORENSEN. 2001. Relationships in broiler chickens between lameness, live weight, growth rate and age. *Vet. Rec.* 148:195–197.

KIM, W.K.; BLOOMFIELD, S.A.; RICKE, S.C. 2011. Effects of age, vitamin D3, and fructooligosaccharides on bone growth and skeletal integrity of broiler chicks. *Poultry Science* 90:2425-2432.

KOCABAGLI, N. 2001. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 25: 797-802.

LEACH, R. M., JR., AND M. S. LILBURN. 1992. Current knowledge on the etiology of tibial dyschondroplasia in the avian species. *Poult. Sci. Rev.* 4:57–65.

LIMA, F. R.; MENDONCA, J. R.; ALVAREZ, J. C.; GARZILLO, J. M. F.; CHION, E.; LEAL, P. M. 1997. Biological Evaluation of Commercial Dicalcium Phosphates as Sources of Available Phosphorus for broiler chicks. *Poultry Science* 76: 1707-1713.

LIMA, F. R.; FERNANDES, J. I. M.; OLIVEIRA, E.; FRONZAGLIA, G. C.; KAHN, H. 1999. Laboratory Evaluations of Feed-Grade and Agricultural-Grade Phosphates. *Poultry Science* 78: 1717-1728.

MARQUES G., A.; MURAKAMI, A.; AMARAL D., C; OSPINA R., I.; PICOLI, K.; MANGILI P., M. 2013. Use of vitamin D<sub>3</sub> and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 26: 408-415.

MARTÍNEZ P., D. 2012. Evaluación de un producto a base de aceite esencial de orégano sobre la integridad intestinal, la capacidad de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo de pollos de carne. Tesis para optar el grado de Mg. Sc. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.

McDEVITT, RM; MCENTEE, GM; RANCE, KA. 2006. Bone breaking strength and apparent metabolisability of calcium and phosphorus in selected and unselected broiler chickens genotypes. *British Poultry Science* Volume 47(5): 613-621.

McDONALD, P.; R. EDWARDS; GREENHALGH J.F.D. Y MORGAN C.A. 1995. *Animal Nutrition* (Fifth Edition). Pearson Education Limited, Essex, United Kingdom. 74, 101-105 Pág.

MENDES, AA; ALMEIDA PAZ, ICL; VULCANO, LC; TAKAHASHI, SE; GARCIA, RG; KOMIYAMA, CM; BALOG, A. 2006. Bone mineral density and bone quality characteristics of broiler breeders. *Proceedings of the XII European Poultry Conference*, Verona, Italy.

MONTEAGUDO, MD; HERNÁNDEZ, ER; SECO, C; GONZALEZ-RIOLA, J; REVILLA, M; VILLA, LF; RICO, H. 1997. Comparison of the bone robusticity index and bone weight/bone length index with the results of bone densitometry and bone histomorphometry in experimental studies. *Acta. Anat. (Basel)*. 160(3):195-199.

MORAES, ER. 2006. Influência dos lipídios da ração sobre o desenvolvimento ósseo e sua composição lipídica em frangos de corte. Tesis para el título de Doutor em Zootecnia, Universidad Estadual de Maringá, Paraná, Brasil, 2006.

MUTUS, R; KOCABAGLI, N; ALP, M; ACAR, N; EREN, M; GEZEN, SS. 2006. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poult. Sci.* 85:1621–1625.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th Rev. Edition. Washington, D.C. National Academic Press.

NASS, I. A. 2008. Deficiencias locomotoras em frangos de corte e bem-estar animal. *Braz. J. Pult. Sci.* 2: 1-6.

NELSON, T. S.; KIRBY, L. K & JOHNSON, Z. B. 1990. Effect of minerals on the incidence of leg abnormalities in growing broiler chickens. *Nut. Res.*, 10:525-33.

NIR, I.; Z. NITSAN, M.; MAHAGNA. 1993. Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. *British Poultry Science*, Volume 34, Issue 3 July 1993, 523-532 Pág.

ONYANGO, E.M.; HESTER, P.Y.; STROSHINE, R. 2003. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*. 82: 1787-1791.

OVIEDO-RONDÓN, E. O., P. R. FERKET, AND G. B. HAVENSTEIN. 2006. Nutritional factors that affect leg problems in broiler and turkeys. *Avian Poult. Biol. Rev.* 17 (3):89-103.

PAGE R. K., O. J. FLETCHER, AND B. PARSHALL. 1979. Calcium toxicosis in broiler chicks. *Avian Dis.* 24:1055–1059.

PANDUREVIĆ TATJANA; MIROSLAV LALOVIĆ; SRETEN MITROVIĆ. 2014. Correlation between body weight before slaughter and slaughter yields broiler carcasses of different lines. *Acta Agriculturae Serbica.* 38: 151-157.

PERRY, T.W. 1984. *Animal Life-Cycle Feeding and Nutrition.* Academic Press, INC. New York, USA. 22-27.

PINTAR J.; HOMEN, B.; GAZIC, K.; GRBESA, D.; SIKIRIC, M.; CERNY, T. 2004. Effects of supplemental phytase on performance and tibia ash of broiler fed different cereals based diets. *Czech J. Anim. Sci.* 49: 542–548.

QUARANTELLI A.; CACCHIOLI A.; ROMANELLI S.; RIGHI F.; ALPIGIANI I.; GABBI C. 2007. Effects of different levels of dietary biotin on the performance and bone structure of broilers. *Ital. J. Anim. Sci.* 6: 5-17.

RAJI, ABDULRAZAQ ONIMISI; JOSEPH U. IGWEEBUIKE; IBRAHIM DANKASA KWARRI. 2010. Regression models of estimating breast, thigh and fat weight and yield of broilers from non invasive body measurements. *Agric. Biol. J. N. Am.* 1(4): 469-475.

RAMA RAO S. V.; PANDA A. K.; RAJU M. V.; SHYAM SUNDER G.; PRAHARAJ N. K. 2003. Requirement of calcium for commercial broilers and white leghorn layers at low dietary phosphorus levels. *Animal Feed Science and Technology.* 106: 199–208.

RATH, NC; BALOG, JM; HUFF, GR; KULKARNI, GB; TIERCE, JF. 1999. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven and seventy two week old male and female broiler breeder chickens. *Poult. Sci.* 78: 1232-1239.

RATH, NC; HUFF, GR; HUFF, WW; BALOG, JM. 2000. Factors Regulating Bone Maturity and strength in poultry. *Poult. Sci.* 79: 1024 -1032.

RIBEIRO B., F.; MARTÍNEZ B., S.; AUGUSTO D., L.; BARBOSA, J.; MORAIS G., A.; RITA P., M.; AMOROSO, L. 2011. Determination of broiler femur parameters at different growth phases. *International Journal of Poultry Science.* 10: 849-853.

RODEHUTSCORD M. 2009. Approaches and Challenges for Evaluating Phosphorus Sources for Poultry. *Proc. 17<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition.* Edinburgh, Scotland.

ROSTAGNO H.; L. TEIXEIRA; J. LOPES; P. GOMEZ; R. OLIVERA; D. LOPES; A. SOARES Y S. BARRETO. 2005. *Tablas brasileñas para aves y cerdos, composición de alimentos y requerimientos nutricionales.* Universidad Federal de Viçosa – Departamento de Zootecnia – 2<sup>a</sup> edición. Editor: Horacio Santiago Rostagno. 186 Pág.

RUTTEN M.; LETERRIER C.; CONSTANTIN P.; REITER K.; BESSEI W. 2002. Bone development and activity in chickens: response to reduced weight-load on legs. *Animal Research* 51: 327-336.

SAS INSTITUTE INC. 2009. *The SAS System for Windows.* Release 9.00.

SATO M. 1995. Comparative X-ray densitometry of bones from ovariectomized rats. *Bone.* 17(4) Supplement 157-162.

SAVAGEAU, M.A. 1979. Allometric morphogenesis of complex systems: derivation of the basic equations from first principles. Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 76(12): 6023-6025.

SEEDOR, JG; QUARTUCCIO, HA; THOMPSON, DD. 1991. The bisphosphonate alendronate (Mk-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. Journal of Bone and Mineral Research, 6(4):339-346.

SEEMAN, E; DELMAS, PD. 2006. Bone quality - the material and structural basis of bone strength and fragility. N. Engl. J. Med. 354:2250-2261.

SHAW, A. L., J. P. BLAKE, AND R. W. GORDON. 2010. Evaluation of commercial phytase enzymes on performance and tibia-breaking strength of male broiler chicks. J. Appl. Poult. Res. 19:415-421.

SMITH M. O.; SOISUVAN, K.; MILLER L. C. 2003. Evaluation of dietary calcium level and fat source on growth performance and mineral utilization of heat-distresses broilers. Int. Journal of Poultry Science 2: 32-37.

SOMKUWAR, AP; RAVIKANTH, K; MAINI, S; REKHE, DS; PATIL, MK; BALLURKAR, B. 2010. Phytase with synergistic herbs: an option to reduce environmental pollution by partial replacement of inorganic phosphorus in broiler ration. International Journal of Poultry Science 9(4):390-394.

SOUZA DA SILVA, LMG. 2010. Níveis de arginina digestível para fêmeas reprodutoras de frangos de corte e sua progenie. Tesis para el título de Doutor em Zootecnia, Universidad Estadual de Maringá. Paraná, Brasil.



TAKITA, T. S. 1998. Efeito do genotipo, do ambiente e da interacao genotipo x ambiente na incidencia de discondroplasia tibial em frangos de corte machos. M.Sc. Diss. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil.

THORP B. H. 1992. Abnormalities in the growth of leg bones. In: Whitehead, C. C. (ed.) Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry. Carfax Publishing Co., Abingdon, UK, pp. 147-166.

THORP, B. H. 1994. Skeletal disorders in the fowl: A review. Avian Pathology. 23: 203-236.

THORP B. H. y WADDINGTON D. 1997. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. Research in Veterinary Science. 62: 67-73.

UCULMANA M., C.; VILCHEZ P., C. 2015a. ¿Son todos los fosfatos iguales? Actualidad avipecuaria. 49: 30 – 32.

UCULMANA M., C.; MARTÍNEZ P., D.; VÍLCHEZ P., C. 2015b. Morfometría ósea y crecimiento alométrico como indicadores de porcentaje de ceniza en tibia en pollos de engorde. Póster XXIV Congreso Latinoamericano de Avicultura. Septiembre 2015. Ecuador.

VELLEMAN, S.G. 2000. The role of the Extracellular Matrix in Skeletal Development. Poultry Science 79:985-989.

WALDROUP, P. W., J. H. KERSEY, E. A. SALEH, C. A. FRITTS, F. YAN, H. L. STILBORN, R. C. CRUM, JR., AND V. RABOY. 2000. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn with and without microbial phytase. Poult. Sci. 79:1451–1459.

WALK, C. L.; SANTOS, T. T.; BEDFORD, M. R. 2014. Influence of superdoses of a novel microbial phytase on growth performance, tibia ash, and gizzard phytate and inositol in young broilers. *Poultry Science*. 93: 1172 – 1177.

WASSERMAN, R.; C. FULLER. 1995. Vitamin D and Intestinal calcium transport facts, speculations and hypothesis. *Journal of nutrition*. 125(7): 1971-1979.

WEAVER, C.M. 2001. Calcium. The Linus Pauling Institute. Department of Foods and Nutrition, Purdue University. 1-12.

WEEKS C. A., T. D. DANBURY, H. C. DAVIES, P., AND S. C. HUNT. 2000. The behavior of broiler chickens and its modification by lameness. *App. Anim. Behav. Sci.* 67:111-125.

WHITEHEAD, C. 1995. Influencia de la nutrición sobre el metabolismo macromineral: Desarrollo del hueso y calidad de la cáscara. XI Curso de especialización FEDNA, Institute Roslin, Edimburgo. 8 Pág.

WHITEHEAD, C. 2002. Influencia de las vitaminas y minerales sobre la formación y calidad del hueso. 11a Conferencia Europea de Avicultura. Bremen, Setiembre 2002. 3 Pág.

WHITEHEAD, C. 2009. Nutritional factors in current broiler bone problems. XLVI Symposium Científico de Avicultura. Zaragoza, Setiembre 2009. 12 Pág.

WILLIAMS, B.; SOLOMON, S.; WADDINGTON, D.; THORP, B.; FARQUHARSON, C. 2000a. Skeletal development in the meat-type chicken. *British Poultry Science* 41, 141-149.

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; SOLOMON, S.; FARQUHARSON, C. 2000b. Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. *Research in Veterinary Science* 69: 81-87.

WU, W., M. E. COOK; Q. CHU and B. SMALLEY. 1993. Tibial dyschondroplasia of chickens induced by fusarochromanone, a micotoxin. *Avian Dis.*, 37: 302-309.

YAN, F., J. H. KERSEY, AND P. W. WALDROUP. 2001. Phosphorus requirements of broiler chicks three to six weeks of age as influenced by phytase supplementation. *Poult. Sci.* 80: 455-459.

YAN F., C. A.; KEEN, K.; Y. ZHANG; WALDROUP, P.W. 2005a. Comparison of methods to evaluate bone mineralization. *J. Appl. Poult. Res.* 14: 492-498.

YAN F.; R. ANGEL; C. ASHWELL; A. MITCHELL; M. CHRISTMAN. 2005b. Evaluation of the Broiler's Ability to Adapt to an Early Moderate Deficiency of Phosphorus and Calcium. *Poultry Science.* 84: 1232-1241.

ZELENKA JIRÍ. 2012. Allometric growth of copper, zinc, manganese and iron in slow – and fast – growing young chickens. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brumensis*, LXI, N°1, pp. 237-241.

ZHANG X.; LIU G.; McDANIEL G. R.; ROLAND D. A. 1997. Responses of broiler lines selected for tibial dyschondroplasia incidence to supplementary 25-hydroxycholecalciferol. *J. Appl. Poultry Res.* 6: 410-416.

ZUIDHOF, MJ. 2005. Mathematical Characterization of broiler carcass yield dynamics. *Poultry Science.* 84: 1108-1122.

ZUIDHOF, M. J.; SCHNEIDER, B. L.; CARNEY, V. L.; KORVER, D. R.; ROBINSON, F. E. 2014. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry Science* 93: 2970-2982.

## **VIII. ANEXO**

**ANEXO I. Largo de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Largo del fémur	Largo de la tibia	Largo del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>mm</b>	<b>mm</b>	<b>mm</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.2313</b>	<b>0.0934</b>	<b>0.1518</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	48.94	63.64	46.57
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	49.46	65.66	47.54
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	48.60	63.07	46.84
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	48.45	63.54	47.67
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>48.86</b>	<b>63.98</b>	<b>47.16</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	49.52	64.70	47.92
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	48.44	63.54	47.47
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	49.50	65.49	48.33
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	51.06	66.66	49.39
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>49.63</b>	<b>65.10</b>	<b>48.28</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	50.15	66.55	48.79
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	48.82	64.50	46.81
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	49.82	66.51	48.35
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	51.23	66.61	49.79
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>50.01</b>	<b>66.04</b>	<b>48.43</b>

**ANEXO II. Ancho de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Ancho del fémur	Ancho de la tibia	Ancho del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>mm</b>	<b>mm</b>	<b>mm</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.4290</b>	<b>0.6778</b>	<b>0.3261</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	7.01	5.73	6.57
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	6.99	5.93	6.57
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	6.83	5.81	6.66
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	6.81	5.71	6.33
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>6.91</b>	<b>5.79</b>	<b>6.53</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	6.78	5.80	6.26
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	7.09	5.94	6.25
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	7.08	5.91	6.50
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	7.41	6.23	6.48
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>7.09</b>	<b>5.97</b>	<b>6.37</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	7.34	5.91	6.48
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	6.59	5.28	5.68
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	7.24	5.92	6.31
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	7.57	6.31	6.52
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>7.18</b>	<b>5.85</b>	<b>6.25</b>

**ANEXO III. Volumen de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Volumen del fémur	Volumen de la tibia	Volumen del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>cm<sup>3</sup></b>	<b>cm<sup>3</sup></b>	<b>cm<sup>3</sup></b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.4615</b>	<b>0.3108</b>	<b>0.7437</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	2.10	2.60	1.94
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	2.35	2.80	2.00
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	2.30	2.65	1.95
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	2.45	2.85	2.00
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>2.30</b>	<b>2.73</b>	<b>1.97</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	2.30	3.00	2.00
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	2.30	2.90	1.88
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	2.38	3.00	2.00
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	2.63	3.19	2.06
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>2.40</b>	<b>3.02</b>	<b>1.98</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	2.63	3.25	2.06
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	2.20	2.30	1.85
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	2.50	3.00	2.05
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	2.45	3.05	2.10
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>2.44</b>	<b>2.90</b>	<b>2.02</b>



**ANEXO IV. Peso de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Peso del fémur	Peso de la tibia	Peso del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>mg</b>	<b>mg</b>	<b>mg</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0739</b>	<b>0.0554</b>	<b>0.3441</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	1452.00	1936.00	1360.00
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	1458.00	1914.00	1352.00
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	1444.00	1832.00	1304.00
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	1542.00	1952.00	1302.00
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>1474.00</b>	<b>1908.50</b>	<b>1329.50</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	1546.00	2102.00	1392.00
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	1530.00	2068.00	1290.00
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	1647.50	2185.00	1482.50
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	1777.50	2390.00	1570.00
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>1625.25</b>	<b>2186.25</b>	<b>1433.63</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	1745.00	2337.50	1475.00
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	1448.00	1854.00	1228.00
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	1764.00	2322.00	1472.00
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	1840.00	2460.00	1516.00
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>1699.25</b>	<b>2243.38</b>	<b>1422.75</b>

**ANEXO V. Densidad de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Densidad del fémur	Densidad de la tibia	Densidad del tarso
<b>Unidad</b>		-	mg/cm <sup>3</sup>	mg/cm <sup>3</sup>	mg/cm <sup>3</sup>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.1012</b>	<b>0.0467</b>	<b>0.1171</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	690.11	763.90	705.69
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	625.03	684.80	679.71
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	629.20	698.40	666.78
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	637.12	685.60	650.76
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>645.37</b>	<b>708.18</b>	<b>675.74</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	674.97	704.86	700.75
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	671.79	724.01	689.29
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	694.89	730.64	744.64
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	678.27	763.47	772.89
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>679.98</b>	<b>730.75</b>	<b>726.89</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	671.86	722.40	720.81
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	659.11	815.60	665.29
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	704.33	775.63	721.51
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	754.07	819.01	732.58
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>697.34</b>	<b>783.16</b>	<b>710.05</b>

**ANEXO VI. Índice de forma de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Índice de forma del fémur	Índice de forma de la tibia	Índice de forma del tarso
<b>Unidad</b>		-	mm/mm	mm/mm	mm/mm
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.7381</b>	<b>0.4471</b>	<b>0.0180</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	7.01	11.13	7.09
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	7.12	11.11	7.25
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	7.12	10.88	7.13
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	7.16	11.13	7.55
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>7.10</b>	<b>11.06</b>	<b>7.25</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	7.31	11.20	7.66
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	6.85	10.85	7.62
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	7.01	11.09	7.44
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	6.89	10.72	7.62
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>7.02</b>	<b>10.97</b>	<b>7.58</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	6.85	11.32	7.61
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	7.43	12.22	8.26
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	6.91	11.25	7.70
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	6.78	10.58	7.66
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>6.99</b>	<b>11.34</b>	<b>7.81</b>

**ANEXO VII. Índice de Seedor de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Índice de Seedor del fémur	Índice de Seedor de la tibia	Índice de Seedor del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>mg/mm</b>	<b>mg/mm</b>	<b>mg/mm</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0688</b>	<b>0.0590</b>	<b>0.4727</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	29.65	30.41	29.52
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	29.46	29.12	28.42
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	29.67	29.04	27.82
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	31.75	30.62	27.22
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>30.13</b>	<b>29.80</b>	<b>28.25</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	31.15	32.49	29.04
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	31.56	32.54	27.46
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	33.29	33.36	30.67
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	34.81	35.86	31.77
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>32.70</b>	<b>33.56</b>	<b>29.74</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	34.78	35.12	30.25
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	29.67	28.76	26.25
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	35.30	34.85	30.44
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	35.89	36.89	30.44
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>33.91</b>	<b>33.90</b>	<b>29.35</b>

**ANEXO VIII. Índice Quetelet de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Índice Quetelet del fémur	Índice Quetelet de la tibia	Índice Quetelet del tarso
<b>Unidad</b>		-	<b>mg/mm<sup>2</sup></b>	<b>mg/mm<sup>2</sup></b>	<b>mg/mm<sup>2</sup></b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0811</b>	<b>0.0756</b>	<b>0.7237</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	0.61	0.48	0.64
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	0.60	0.44	0.60
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	0.61	0.46	0.59
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	0.66	0.48	0.57
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>0.62</b>	<b>0.47</b>	<b>0.60</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	0.63	0.50	0.61
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	0.65	0.51	0.59
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	0.67	0.51	0.63
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	0.68	0.54	0.64
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>0.66</b>	<b>0.52</b>	<b>0.62</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	0.69	0.53	0.62
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	0.61	0.45	0.56
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	0.71	0.52	0.63
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	0.70	0.55	0.61
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>0.68</b>	<b>0.51</b>	<b>0.61</b>

**ANEXO IX. Índice de robusticidad de los huesos.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Índice de robusticidad del fémur	Índice de robusticidad de la tibia	Índice de robusticidad del tarso
<b>Unidad</b>		-	$\text{mm}/(\text{g})^{1/3}$	$\text{mm}/(\text{g})^{1/3}$	$\text{mm}/(\text{g})^{1/3}$
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.1357</b>	<b>0.1515</b>	<b>0.6900</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	4.33	5.11	4.16
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	4.36	5.29	4.31
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	4.31	5.16	4.30
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	4.20	5.10	4.37
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>4.30</b>	<b>5.16</b>	<b>4.29</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	4.29	5.06	4.29
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	4.21	5.00	4.32
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	4.20	5.05	4.24
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	4.22	4.99	4.25
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>4.23</b>	<b>5.02</b>	<b>4.28</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	4.17	5.02	4.29
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	4.32	5.25	4.37
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	4.13	5.03	4.26
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	4.18	4.94	4.34
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>4.20</b>	<b>5.06</b>	<b>4.31</b>

**ANEXO X. Peso vivo, de carcasa, de pechuga e indicadores comerciales.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Peso vivo	Carcasa	Pechuga	Porcentaje de carcasa	Porcentaje de pechuga
<b>Unidad</b>		-	<b>gramos</b>	<b>gramos</b>	<b>Gramos</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.4588</b>	<b>0.3078</b>	<b>0.3261</b>	<b>0.2681</b>	<b>0.4612</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	892.80	629.00	178.94	70.41	20.02
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	893.20	635.20	175.46	71.15	19.69
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	846.60	615.40	178.02	72.68	20.99
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	874.60	618.00	181.67	71.99	21.20
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>876.80</b>	<b>624.40</b>	<b>178.52</b>	<b>71.56</b>	<b>20.47</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	861.80	616.00	174.48	71.60	20.28
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	930.20	593.80	177.18	64.20	19.13
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	951.50	695.00	210.44	72.95	22.05
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	888.00	678.67	200.67	70.66	20.89
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>907.88</b>	<b>645.87</b>	<b>190.69</b>	<b>69.85</b>	<b>20.59</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	966.80	686.20	199.67	70.97	20.60
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	811.80	585.40	166.57	72.08	20.49
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	991.40	723.33	225.67	72.99	22.80
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	930.40	718.20	199.67	77.19	21.48
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>925.10</b>	<b>678.28</b>	<b>197.90</b>	<b>73.31</b>	<b>21.34</b>

**ANEXO XI. Peso de órganos viscerales.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Hígado	P+M	Intestino	Corazón
<b>Unidad</b>		-	<b>gramos</b>	<b>gramos</b>	<b>gramos</b>	<b>gramos</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0594</b>	<b>0.9079</b>	<b>0.3550</b>	<b>0.7396</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	24.09	38.29	73.82	6.30
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	22.41	46.68	69.85	5.50
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	24.18	36.43	63.60	6.06
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	21.58	34.93	58.09	7.11
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>23.07</b>	<b>39.08</b>	<b>66.34</b>	<b>6.24</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	22.69	38.10	63.35	5.39
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	23.00	40.68	67.34	6.14
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	23.88	37.72	67.38	6.32
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	23.86	34.79	80.55	5.95
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>23.36</b>	<b>37.82</b>	<b>69.65</b>	<b>5.95</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	26.01	44.63	77.24	7.13
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	23.35	33.17	65.97	5.51
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	25.84	38.37	80.81	7.44
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	24.98	39.24	71.47	5.38
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>25.04</b>	<b>38.85</b>	<b>73.87</b>	<b>6.36</b>



**ANEXO XII. Peso de órganos linfoides.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Bursa	Bazo
<b>Unidad</b>		-	<b>Gramos</b>	<b>Gramos</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.5146</b>	<b>0.5434</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	2.19	1.16
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	2.69	0.81
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	2.24	0.95
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	2.59	0.84
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>2.43</b>	<b>0.94</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	2.09	0.79
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	2.21	0.98
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	2.25	0.81
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	2.50	0.83
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>2.26</b>	<b>0.85</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	2.38	1.08
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	2.27	0.76
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	2.54	1.01
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	2.16	0.93
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>2.34</b>	<b>0.95</b>

**ANEXO XIII. Variables de integridad esquelética.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Capacidad para caminar	Necrosis de cabeza femoral
<b>Unidad</b>		-	<b>Escala</b>	<b>escala</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0268</b>	<b>0.1623</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	3.80	1.00
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	4.80	1.00
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	4.00	1.00
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	4.20	1.00
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>4.20</b>	<b>1.00</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	4.40	1.30
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	4.60	1.00
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	5.25	1.00
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	5.40	1.13
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>4.91</b>	<b>1.11</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	4.80	1.00
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	5.00	1.00
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	5.40	1.00
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	5.80	1.00
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>5.25</b>	<b>1.00</b>

**ANEXO XIV. Coeficientes de crecimiento alométrico.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	CCA carcasa	CCA pechuga	CCA hígado	CCA P+M	CCA intestino	CCA corazón
<b>Unidad</b>		-	-	-	-	-	-	-
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.6339</b>	<b>0.5208</b>	<b>0.3891</b>	<b>0.5474</b>	<b>0.6713</b>	<b>0.4904</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	1.26	6.29	0.95	0.73	1.82	0.96
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	1.27	6.16	0.89	0.89	1.72	0.84
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	1.30	6.59	1.01	0.73	1.65	0.98
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	1.26	6.51	0.87	0.68	1.46	1.11
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>1.27</b>	<b>6.39</b>	<b>0.93</b>	<b>0.76</b>	<b>1.66</b>	<b>0.97</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	1.27	6.35	0.93	0.75	1.61	0.85
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	1.14	5.97	0.87	0.74	1.59	0.90
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	1.30	6.94	0.89	0.67	1.56	0.91
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	1.36	7.09	0.95	0.67	1.99	0.91
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>1.27</b>	<b>6.59</b>	<b>0.91</b>	<b>0.71</b>	<b>1.69</b>	<b>0.89</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	1.26	6.48	0.95	0.78	1.75	1.01
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	1.29	6.43	1.02	0.69	1.78	0.93
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	1.30	7.14	0.92	0.66	1.79	1.02
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	1.38	6.73	0.95	0.72	1.69	0.79
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>1.31</b>	<b>6.69</b>	<b>0.96</b>	<b>0.71</b>	<b>1.75</b>	<b>0.94</b>

**ANEXO XV. Contenido de ceniza en tibia.**

Tratamiento	Repetición	Relación Ca:Pd	Contenido de ceniza en tibia
<b>Unidad</b>		-	<b>%</b>
<b>P (probabilidad)</b>		-	<b>0.0001</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.13</b>	42.80
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1.13</b>	41.94
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1.13</b>	41.53
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.13</b>	41.06
<b>Promedio T1</b>		<b>1.13</b>	<b>41.83</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1.55</b>	44.61
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1.55</b>	44.41
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1.55</b>	43.73
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1.55</b>	43.72
<b>Promedio T2</b>		<b>1.55</b>	<b>44.12</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1.98</b>	45.08
<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1.98</b>	46.34
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.98</b>	44.65
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>1.98</b>	45.97
<b>Promedio T3</b>		<b>1.98</b>	<b>45.51</b>