

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.

DIVISIÓN CIENCIAS VETERINARIAS



**EVALUACIÓN DEL FÓSFORO EN YEMA DE HUEVO COMO MÉTODO PARA
MEDIR LA DISPONIBILIDAD BIOLÓGICA.**

**TESIS QUE PRESENTA
MVZ MARIANO DELGADILLO GONZÁLEZ**

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN ANIMAL**

Director: Ph.D. José Luis Buenrostro Silva

Asesor: Ph.D. José Rogelio Orozco Hernández

Las Agujas, Nextipac, Mpio. de Zapopan, Jalisco. Enero 1999.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	XI
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIII
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	2
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y MÉTODOS	12
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	38
LITERATURA CITADA	39

AGRADECIMIENTOS

IGUAL QUE LA FE NO OBSCURECE LA CIENCIA, TAMPOCO LA OBEDIENCIA
DESTRUYE LA LIBERTAD HUMANA.

A mis padres: Ángel Delgadillo
 Rebeca González

A mi esposa: Lupita Sandoval, quien a compartido su fe, esperanza, apoyo y
 dedicación

A mis hijas: Mariana, Liliana y Adriana para que el tiempo que me dieron sea
 una inversión para su futuro.

A mis asesores: Ph.D. José Luis Buenrostro Silva
 Ph.D. José Rogelio Orozco Hernández

Y al gran amigo, que empujó el último paso para la realización del trabajo.

PhD. José Rogelio Orozco Hernández

RESUMEN

La medición de disponibilidad biológica (**DB**) del fósforo muestra su utilización por el organismo. Pero, los métodos utilizan la ceniza de hueso como respuesta, sin posibilidad de repetición, por lo que se pretende evaluar la DB usando el fósforo en la yema (**PY**) de huevo como respuesta repetible. Se utilizaron 50 gallinas de la raza Leghorn (Línea Dekalb) de 100 semanas de edad, en 66% de postura. El estudio comprendió dos experimentos con dietas prácticas: 1) con 0.35, 0.40, 0.45, 0.50 y 0.55% de fósforo y con muestreo de huevo a los 7 (**D7**) y 14 (**D14**) días. Los parámetros fueron analizados como un diseño al azar, con arreglo (tratamientos) factorial 2×5 , con 5 repeticiones, y la relación se estableció por regresión. 2) niveles de 0.40, 0.45, 0.50 y 0.55% y cuatro fuentes del mineral [ortofosfato 21% (Testigo), ortofosfato 18% (**O18**), harina de hueso (**HH**), roca fosfórica defluorinada (**RF**)]. La producción con niveles superiores al 0.40% ($P < 0.05$). El nivel de PY varió con respecto a la suplementación con ortofosfato ($P < 0.05$), tanto en D7 como D14, encontrándose una alta correlación ($r = 0.91$). El peso de yema fue más constante en D7 que en D14 ($P < 0.05$). La DB del fósforo fue de 104% para HH, 75% para O18, y 91% para RF ($P < 0.05$). En base a los resultados se concluye que el fósforo en PY es un método a emplear en estudios de disponibilidad biológica.

ABSTRACT

Measuring the bioavailability (**DB**) of phosphorus shows its utilization by the organism. However, since most studies use bone ash as criteria, without possibility of repetition of results, an alternative method is evaluated; phosphorus in yolk (**PY**). Fifty Leghorn (Dekalb) hens averaging 100 weeks of age and at 66% production. This study comprised two experiments (both using practical diets): 1) with the supplementation of 0.35, 0.40, 0.45, 0.50 y 0.55% phosphorus (using orthophosphate 21%), and sampling at day 7 (**D7**) and 14 (**D14**). Parameters were analyzed as a randomized design with factorial 2 x 5 arrangement, and 5 replicates. Relationship was establish by regression. 2) 0.40, 0.45, 0.50, and 0.55% supplementation was used, with four sources of the mineral [orthophosphate 21% (control), orthophosphate 18 (**O18**), bone (**HH**), defluorinated rock (**RF**)]. Egg production higher with levels of supplementation higher than 0.40% ($P < 0.05$). The PY changed with every level of orthophosphate ($P < 0.05$), in both D7 and D14, with high correlation ($r = 0.91$) between supplementation level and PY. Yolk weight remained more constant in D7 than D14 ($P < 0.05$). Bioavailability was the highest with HH [104%; $P < 0.05$ (75% for O18, and 91% for RF)]. Based on the results obtained in this study, deposition of phosphorus in the yolk can be used as a method to evaluate bioavailability of the mineral.

INTRODUCCIÓN

Los minerales en la nutrición animal revisten una importancia vital ya que participan en múltiples mecanismos metabólicos, por lo tanto son adicionados a la ración con la finalidad de evitar la carencia y los trastornos subsecuentes que esto acarrea. Los minerales en los seres vivos juegan un papel único promoviendo el crecimiento y mantenimiento de los tejidos corporales, aunque no suplementa energía ni proteína son esencialmente necesarios para la producción de ambos (2, 3, 6, 27) los minerales se encuentran agrupados en conjuntos de 21, subdivididos en micro-minerales (trazas) y macro-minerales (3, 46, 60).

Dentro de este último grupo se encuentran ubicados los minerales calcio y fósforo, los que por su participación en actividades claves del metabolismo animal, se encuentran dentro como los más relevantes. El fósforo constituye el 1% del peso corporal del animal, seguido en proporción por el calcio, el cual es aproximadamente el 80%, encontrándose depositado predominante en tejido óseo (36). Por tanto, el fósforo es el elemento mineral que tiene el costo más alto de entre los minerales suplementados en la dieta (22, 47, 76).

Sin embargo, los ingredientes fuentes del mineral, utilizados en la suplementación, presentan diferentes tasas de digestión, comúnmente denominada digestibilidad aparente. Esta medida aporta conocimiento vago del uso del mineral, ya que el mismo organismo tiende a secretar al interior del intestino cantidades de estos que pueden alterar las mediciones.

Por lo anterior, se desarrollaron pruebas más exactas de la utilización del mineral en los procesos metabólicos del animal empleando aquellos elementos donde el mismo puede ser importante, por ejemplo, el tejido óseo (22, 36). Dichas pruebas son conocidas como evaluaciones de la disponibilidad biológica, ya que hace la relación de la suplementación en dieta con la fuente a probar y su deposición en el órgano seleccionado como respuesta, implicando necesariamente el sacrificio del animal. Pero, deben de evaluarse métodos alternativos, como es la deposición en yema de huevo, la cual probó ser un reservorio normal de nutrimentos (9, 68).

REVISIÓN DE LITERATURA

Por lo estipulado, en la sección precedente, es importante que el elemento en cuestión sea utilizado por el organismo a partir de las fuentes de suplementación (3), ya que el fósforo en el organismo vivo tiene las siguientes funciones; entre 80-90% (conjuntamente con los minerales calcio, zinc, magnesio, molibdeno y arsénico) participan en la formación del tejido óseo a través de la formación de hidroxiapatita [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ (37)], así como en dientes. El restante 20% del fósforo se encuentra distribuido en todo el organismo (2, 29, 36, 47), donde desempeña funciones que van desde la formación de capas de fosfolípidos a nivel celular (37), reacciones activadoras del mecanismo enzimático del metabolismo celular (8), la formación de hemoglobina (Fe^{++}), sistemas citocromos (Cu^{++}), compuestos de alta energía (ADP, ATP), en el mensaje genético (ADN, ARN) e incluso en la remoción y deposición del calcio y del mismo fósforo a nivel óseo, formando la fosfatasa alcalina responsable de estas dos funciones.

El fósforo a nivel tisular se encuentra presente en forma de esteres del ácido ortofosfórico y en el complejo membranal de fosfolípidos (37). Además, el fósforo en aves juega un papel importante en los procesos de formación de cáscarón, albúmina, y yema de huevo, esta última será utilizada para la posterior alimentación del embrión durante su desarrollo (8, 60, 71). Toda esta información muestra la relevancia que tiene el mineral para el mantenimiento de la integridad corporal, al conservar la presión osmótica (3), siendo desde el punto de vista metabólico el más versátil de los minerales (36).

También el fósforo interviene en el desarrollo de las estructuras foliculares que conllevaran a la formación del folículo en los ovarios del ave y la subsecuente generación de la yema y el embrión (8, 16).

La absorción de este mineral se realiza en el intestino delgado (duodeno), intestino grueso en rumiantes (27), así como en el duodeno, yeyuno e íleon en monogástricos y en relación al pH de estos compartimientos (2, 7, 14, 33), además de contar con la participación de la hormona calcitropina y paratohormona (17, 42), aunadas a la vitamina D₃ proveniente de la dieta o producida por el organismo (2, 6, 14).

Además durante el proceso de absorción del fósforo se presenta una relación positiva con otros minerales y a niveles altos de fósforo se inhibe la absorción de estos, ejemplo de este mecanismo son los resultados de Ravidron *et al.* (60) quienes observaron una interacción negativa del mineral con el calcio, resultando en una alteración de la relación adecuada.

Como es mencionado en el párrafo precedente, el fósforo debe ser suplementado a partir de fuentes que contengan el mineral en cantidades suficientes para ser considerado como tal. Pero, la relación con otros elementos de la ración suelen tener efectos diversos, ya sea reducción de la absorción o actuar sinérgicamente en esos procesos (3, 27).

Algunos de los factores que influyen en la utilización del fósforo, que están presentes en los ingredientes empleados en la alimentación de los animales (variando con las diferentes especies) son; tipo de dieta utilizada, y forma química en la que es presentada el fósforo (3, 5, 28, 29, 62, 75, 76, 77). Además, de estos factores la relación calcio:fósforo (3, 5, 28, 29, 62, 75), y tamaño de partícula (10, 36) se encuentran vinculados con la absorción y mantenimiento del nivel sanguíneo del mineral.

La deposición de minerales en el tejido óseo y su subsecuentes remoción está controlada, hasta cierto punto, por la hormona del crecimiento (56), también tienen efecto los siguientes factores; cantidad de mineral en circulación en sangre (10, 11, 60, 64), edad del animal durante la cual se realizó la determinación (22, 30, 50, 54, 55, 59, 67), nivel de fibra en la dieta ofrecida (3, 46, 47, 81), así como la concentración de grasa en la misma (3, 55). Otros elementos minerales, presentes en la ración, que afectan la deposición y remoción de los elementos almacenados en tejido son; hierro (36, 66, 67, 72), flúor (43, 44) vanadio, aluminio (13, 21, 43, 44), zinc (3).

También la utilización del fósforo es afectada por la fuente de proteína (34, 55, 69, 77), así como el contenido, la presentación del mineral, ya que el fósforo fitico en monogástricos (cerdos y aves) presenta una la solubilidad baja, siendo así su uso por el animal (3, 47, 76). Además, la disponibilidad que tiene el fósforo, tiende a variar con respecto a la especie y edad del animal (72), ya que los rumiantes lo utilizan en mayor proporción que los monogástricos, por contar con la enzimas (fitazas) bacterianas que colaboran a la solubilización del fósforo fitico presente en los ingredientes vegetales (37, 48, 58, 61, 66).

Sin embargo, también existen algunas fitazas secretadas a nivel duodenal en los monogástricos (especialmente en cerdos), las cuales pueden colaborar a hidrolizar la unión que conserva fósforo fitico presente en la dieta con otros elementos estructurales de la célula vegetal (57, 76). Por ello Denbow *et al.* (28) realizaron pruebas donde agregaron a la dieta de aves, fitazas obtenidas artificialmente, obteniendo con fuentes de fósforo de origen vegetal, un incremento en la disponibilidad del fósforo y repercutiendo en la productividad del animal, resultado esperado al aumento en su aprovechamiento.

Por otro lado, según Damrom y Flucker (26), un alto contenido de grasa en la dieta reduce el paso del fósforo al torrente sanguíneo (absorción) por la formación de jabones, los cuales secuestran al mineral, reduciendo así su transporte. Por otro lado, el hierro en niveles altos impide la utilización del fósforo de la dieta, ya que produce una hemacromatosis siderosis (42). El aluminio y el flúor en cambio, quelan el fósforo reduciendo su absorción a nivel intestinal (6, 14, 60, 71), haciendo indispensable la suplementación del mineral en las dietas de monogástricos para evitar deficiencias.

Dicha suplementación puede hacerse a partir de algunas fuentes de fósforo como pueden ser: minerales (ortofosfatos dicálcicos, fosfatos dicálcicos, roca fosfórica, etc.), o con el uso de fuentes orgánicas de origen animal (como son: harina de hueso, harina de sangre, y harina de pescado, etc.). Por otro lado, se encuentran las fuentes de origen vegetal como son: granos, sus subproductos y derivados, pastas oleaginosas, y cereales (27, 34, 42, 58, 74).

Sin embargo, el fósforo presente en los granos y otros ingredientes de origen vegetal se encuentra en forma de ácido fítico, el cual puede ser digerido por los rumiantes entre un 50-75%, ya que el animal posee enzimas a nivel ruminal que ayuda a desdoblar e hidrolizan la fuente (36, 77), facilitando su absorción. En cambio el animal monogástrico lo digiere de un 10 a 30% (inclusive en los pavos de un 20%) ya que carece parcialmente de la enzima necesaria para su completo aprovechamiento (7, 14, 42, 74, 80), y la utilización de fitazas comerciales en la alimentación por el momento no es práctica común cuando se utilizan alimentos procesados (respecto a la harina) por la inconveniente inactivación que se presenta durante el proceso de peletización (28).

Por lo tanto, se necesita medir que cantidad pudiera aprovecharse del fósforo presente en los ingredientes, encontrando que en la industria avícola es indispensable la evaluación permanente de minerales para sostener los límites mínimos de producción, afectada por los minerales, sobre todo el fósforo, a través de la nutrición. Para evaluar la disponibilidad biológica del fósforo es necesario realizar una serie de pruebas encaminadas a determinar el fósforo que puede ser aprovechando por el animal (4, 5, 7, 14, 15, 23).

Existen técnicas de evaluación para la determinación de la disponibilidad biológica del fósforo, las que incluyen aquellas que miden la solubilidad del mineral en soluciones ácidas alcalinas (15, 18, 24, 42, 73, 74), así como las que miden en cerdos; ceniza de ciertos huesos del esqueleto (11, 29, 60, 64, 71, 72), e incluso aquellas que miden la cantidad de fósforo en suero plasmático (1, 62).

En aves, a parte del efecto que es medible por medio de la producción de huevo (18, 19, 58, 62), la solubilidad del fósforo y su correlación con disponibilidad (13, 19, 72), se han llegado a medir la cantidad de cenizas del fémur (64, 71), tarso (18, 60), y en la mayoría de los estudios el hueso empleado es la tibia después de haberla desengrasado (1, 19, 20, 23, 24, 26, 36, 39, 58, 60, 73, 74, 75, 79, 82) y su contenido de fósforo.

Además en la literatura se han publicado métodos como; la medición dimensional de tibia de pavo (1, 58), nivel de fósforo en suero plasmático de gallina (21, 39, 47, 64), resistencia del hueso a la fractura (18, 24, 79) como resultado de la disponibilidad del fósforo de la dieta.

Pero, cuando se utiliza la determinación de cenizas de hueso (y su contenido de fósforo) como método de evaluación de disponibilidad biológica del fósforo, el sacrificio del animal empleado durante el experimento es inminente, y en relación con la especie utilizada. Además de la precedente limitación metodológica, el tiempo requerido para su evaluación final en ocasiones es prolongado, así como la falta de precaución en seguimiento, por lo que es relativamente fácil obtener resultados cuya interpretación sea errónea, ya que el combinar los dedos u otro hueso de varios pollos para que pueda existir suficiente masa de hueso, lo que implica una variación interindividuo, e incluso interespecie, no controlable por el investigador (23, 60).

Pero, el índice de repetibilidad de estos resultados (en experimentos que usa la cantidad de cenizas de hueso), con los mismos individuos es bajo, ya que se sacrifica el sujeto de experimentación, impidiendo la posible corroboración de los mismo. Aunque las evaluaciones realizadas con aves (especialmente en pollos jóvenes) suelen necesitar un período de tiempo corto (53, 54, 56, 58, 60), el número de animales es alto, y los resultados son variables. Por lo que sería de relevancia buscar un método alternativo que permita la realización de la evaluación de la cantidad que es disponible del fósforo de fuentes de este mineral (tanto vegetal, mineral y animal).

Dichas técnicas, además de ser económicas, deberán de ser accesibles y permitir el manejo de un número representativo de repeticiones, además deberán de facilitar la posibilidad de repetir la prueba con el mismo sujeto experimental, con la finalidad de proveer de mayor validez y facilitar la corroboración de los resultados.

Una técnica inovadora pudiera ser a través de la deposición del mineral en órganos de rápido crecimiento, como es el caso de yema de huevo, la cual se ha demostrado es sensible a cambio de composición en relación a la dieta (9, 41, 44, 45, 64, 68). Por lo tanto, el contenido del fósforo en yema de huevo pudiera ser una alternativa, ya que durante la etapa de formación del ovulo (yema) en el ovario, se absorbe el nutrimento atravesando la membrana vitelina por un proceso de presión osmótica del suero plasmático hacia el ovario del ave (4, 8, 20, 21, 64).

Este método de medición de la disponibilidad de mineral se basaría en la relación que existe en la concentración del nutrimento en la ración (así como su fuente) y su contenido en yema de huevo. Larshaw (41) empleo la deposición en yema de huevo del mineral como técnica para medir la disponibilidad biológica del selenio de los ingredientes utilizados en la alimentación de aves, dando resultados y con alta correlación, a los encontrados con otros procedimientos.

Por otro lado, el contenido de nutrimentos en la yema de huevo, se ha empleado para medir la disponibilidad biológica, por ejemplo, Buenrostro (9) midió la cantidad de la vitamina biotina en yema de huevo como respuesta a la suplementación de esta en la dieta, dando resultados confiables, permitiendo la repetibilidad de la prueba y una elevada correlación con el nivel de suplementación del nutrimento en cuestión.

También se ha empleado la deposición de nutrimentos en las partes del huevo para medir las variaciones provocadas con la suplementación en aves de postura (44, 45, 68). Dentro de los trabajos publicados en la literatura se encuentran los de Mitchel *et al.* (44) quienes estudiaron el efecto de la suplementación de vitamina A y de riboflavina (45); y así como el trabajo de Squires y Naber (68) quienes utilizaron la vitamina B₁₂.

En todos los estudios precedentes (44, 45, 68) la respuesta a la suplementación de la vitamina empleada fue medida por medio del estado de salud del ave, como por el nivel de producción, y a través de la posible relación existente con la concentración del nutrimento en; yema de huevo y clara.

En los tres casos se presentó una estrecha relación con el nivel de suplementación del nutrimento y la calidad del huevo y sus componentes, además de utilizarla como respuesta al estado nutricional de gallinas. Por lo tanto, evaluar éste método como una técnica alternativa para medir la disponibilidad biológica del fósforo se hace necesario, puesto que mantiene vivas las gallinas, lo que permitirá realizar otros estudios o pruebas para corroborar los resultados con el mismo sujeto de experimentación, proveyendo un método repetible que todo investigador quisiera tener.

HIPÓTESIS

Si el fósforo participa en la formación del huevo y su concentración en yema de huevo puede variar con los niveles de fósforo suplementado en la dieta, entonces la determinación del fósforo en yema de huevo puede utilizarse como método para medir la biodisponibilidad del fósforo presente en las fuentes de este mineral.

OBJETIVOS

General.

Evaluar la deposición de fósforo en la yema de huevo como método para determinar la disponibilidad biológica del mineral.

Particulares.

1. Determinar la relación existente entre fuente de fósforo, nivel de suplementación en la dieta y tiempo de toma de la muestra para una mejor correlación con la concentración de éste en yema de huevo.
2. Cuantificar el contenido del fósforo disponible en las fuentes utilizadas, para la determinación del fósforo presente a través de yema de huevo como parámetro de respuesta.
3. Medir las variaciones del contenido de fósforo en cascarón y huevo provocadas por el tiempo de toma de muestra y los niveles y fuentes del mineral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cincuenta gallinas (despicadas) de la raza Leghorn de la línea Dekalb, de 100 semanas de edad y en segundo ciclo de postura, con 29 semanas de pelecha, y un nivel de postura de 66%, las cuales fueron alojadas en jaulas convencionales de 25 x 45 cm. colocadas sobre un soporte de metal. Las aves recibieron una dieta [16% proteína cruda y un contenido de 2.7 Mcal. de EM (50)] elaborada utilizando como base el grano de sorgo y pasta de soya como principal ingrediente (Cuadro 1). La ración fue ofrecida en forma de harina en comederos convencionales para aves de postura. Durante toda la prueba el calendario de iluminación aplicado a las aves fue de 16 horas de luz por día.

En esta parte del estudio (primer experimento), diez gallinas (incluyendo repeticiones) fueron asignadas, en base a una distribución completamente aleatorizada, a cada uno de los niveles de suplementación de fósforo. Con la finalidad de evaluar el impacto del nivel de fósforo sobre el contenido de este mineral en yema de huevo, se elaboraron cinco dietas conteniendo niveles de suplementación crecientes de fósforo [0.35, 0.40, 0.45, 0.50, y 0.55%, base materia seca (Cuadro 2)] a partir de una fuente con disponibilidad biológica conocida (ortofosfato 21%). La dieta práctica empleada fue en harina, la cual se preparó mecánicamente y ofrecido diariamente a las aves, el agua de bebida fue suministrada a libre acceso.

Se tomaron muestras de huevo producido durante el primer día de adaptación (relación con testigo) que duro 15 días entre periodos, así como el día 7 (**D7**) y 14 (**D14**) de la prueba, durante los que se determinó; porcentaje de postura, peso de huevo y de yema (base húmeda). El procedimiento se repitió en tres ocasiones (periodos) y los análisis de laboratorio fueron realizados en triplicado.

La yema de huevo se deshidrató en estufa, con temperatura de 70°C durante 72 horas, hasta obtener un peso constante, posteriormente el material deshidratado se desengrasó por la técnica de arrastre de solvente (Soxlet) durante dos horas con éter de petróleo en la etapa inicial y éter etílico en la subsecuente (4). Muestra de material desengrasado y de cascarón se molieron, y posteriormente se incineraron en un mufla a temperatura de 500°C durante 24 horas, y a las cenizas fueron utilizadas para determinar el contenido de fósforo por medio de espectrofotometría.

Los datos obtenidos [producción (%), peso de huevo, peso de yema de huevo, fósforo en yema y cascarón] se analizaron mediante análisis de varianza para un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 5 (dos tiempos de toma de muestra y cinco niveles de suplementación), con 5 repeticiones y tres períodos por cada tratamiento, además se utilizó la regresión lineal (70) para estimar la posible relación existente entre el contenido de fósforo en la dieta y en la yema de huevo por medio de la.

En el segundo experimento se evaluó la variación del contenido de fósforo en yema de huevo con relación a la fuente de suplementación del mineral, para la cual se relacionaron los niveles de 0.40 0.45 0.50 y 0.55% en dietas a base sorgo y pasta de soya. Previo al inicio de esta etapa, las aves recibieron un período de adaptación de 15 días a una dieta basal, las fuentes evaluadas fueron: ortofosfato 21 [Fósforo 21%, Calcio 20% (considerando con disponibilidad biológica del 100%, el cual fue utilizado como referencia en su efecto sobre el fósforo en yema)], ortofosfato 18/20 (Fósforo 18%, Calcio 13%, máx. Flúor 0.7%), harina de hueso (fósforo 12%, Calcio 20%) y roca fosfórica deflourinada (Fósforo 9.4%, Calcio 29%, máximo 0.5% de Flúor).

Los datos productivos y de análisis laboratorial del huevo fueron idénticos a los efectuados en la prueba inicial. Además con la cantidad de fósforo depositado en la yema de huevo, se determinó la disponibilidad biológica del mineral contenido en las fuentes, basándose en la variación causada en el contenido del mismo en yema de huevo, por la fuente a evaluar con respecto al ortofosfato 21% (testigo considerado como de disponibilidad 100%).

La comparación entre la respuesta con las distintas fuentes de fósforo fueron hechas mediante un análisis de varianza completamente al azar y con arreglo (de tratamientos) factorial 4 x 4 (cuatro fuentes y cuatro niveles de suplementación), considerando además las fechas de toma de muestra (D7 y D14) y tres períodos de medición.

En ambos experimentos se utilizó un alfa 0.05 para declarar diferencias estadísticas, y cuando ésta existió entre la concentración del fósforo en yema de huevo con respecto al nivel de suplementación (y/o fuente) del mineral y tiempo de toma de muestra, se les realizó la prueba de Tukey (63) para separar los promedios.

Cuadro 1. Dieta basal utilizada en la prueba de biodisponibilidad de fósforo.

Ingredientes	kg/tonelada
Sorgo	650.51
P. Soya	190.00
Cartarina	50.00
H. de alfalfa	20.00
Calcio polvo	51.00
Calcio grano	22.00
Aceite crudo	14.00
Sal	3.50
Optivit	2.00
Minerales	1.00
Metionina	0.98
Total	985.00
Análisis calculado	
Proteína, %	16.40
EM, Mcal / kg.	2.70
Metionina, %	3.20
Lisina, %	3.00
Calcio, %	3.00
Fósforo, %	1.60
Grasa, %	3.20
Fibra cruda, %	4.30

Cuadro 2. Características de la fuente de fósforo utilizada como testigo (Ortofosfato).

Análisis garantizado (%)

Fósforo no más de	21.00
Calcio no más de	20.00
Flúor no más de	0.21

Características Física:

Tamaño de partícula malla 12 (1.52 mm) no menos de 99
malla 100 (0.15 mm) no más de 5.

Densidad aparentes (granel) aproximado 1,000 g/L

Humedad aproximada 3.5%

Color gris claro

Análisis químico (%)

Fósforo	21.10
Calcio	16.70
Flúor	0.15
Fierro	0.90
Magnesio	0.60
Manganeso	0.03
Molibdeno	0.001
Cobre	0.0016
Sodio	0.12
Potasio	0.09
Cobalto	0.0006
Zinc	0.0110
Azufre	1.00
pH	3.60

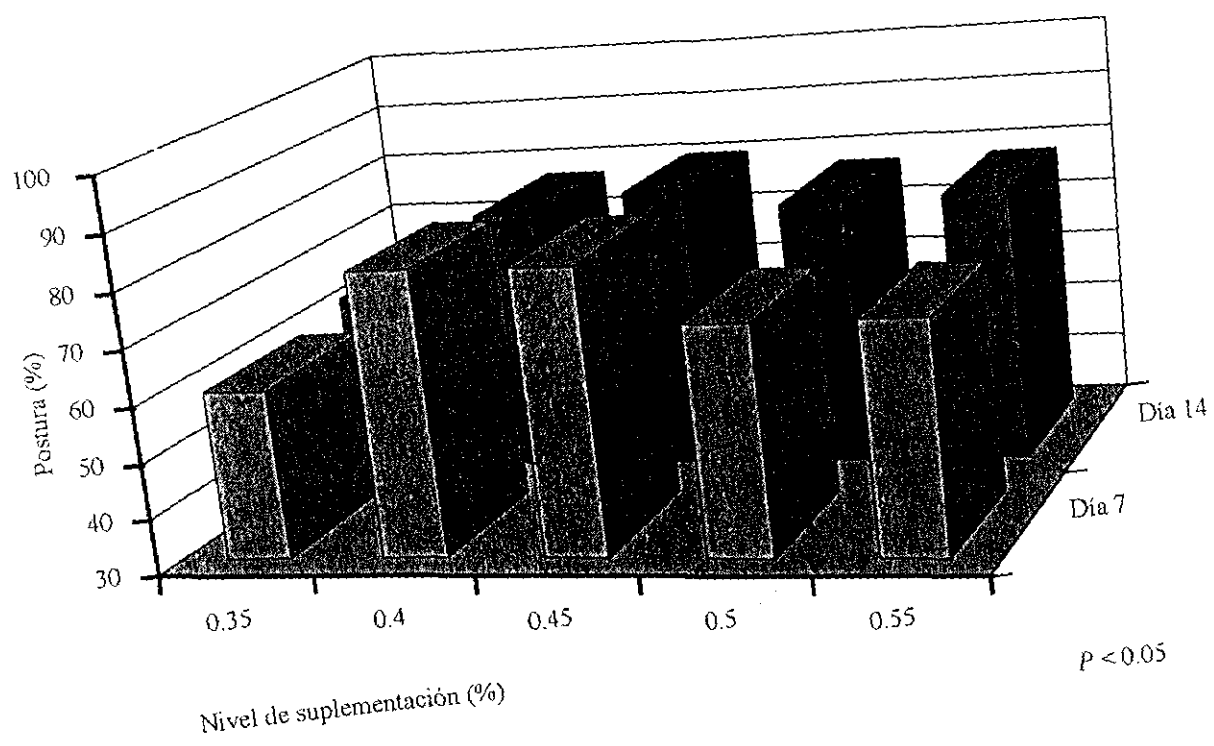
RESULTADOS

El porcentaje de producción de huevo fue similar en ambos días de toma de muestra ($P > 0.05$), y durante todo el experimento se encontró poca variación del parámetro por efecto del nivel de suplementación de fósforo, comparado con el día inicial (Gráfica 1; promedio 73.28%), en cambio el parámetro presentó una interacción con el nivel y la fuente del mineral ($P < 0.05$). Con el nivel de suplementación 0.35%, el porcentaje de postura tendió a ser menor que el encontrado con los otros niveles (60%; $P < 0.05$). Sin embargo, el porcentaje más alto de postura (80%) se observó con el nivel 0.40 y 0.45% de suplementación.

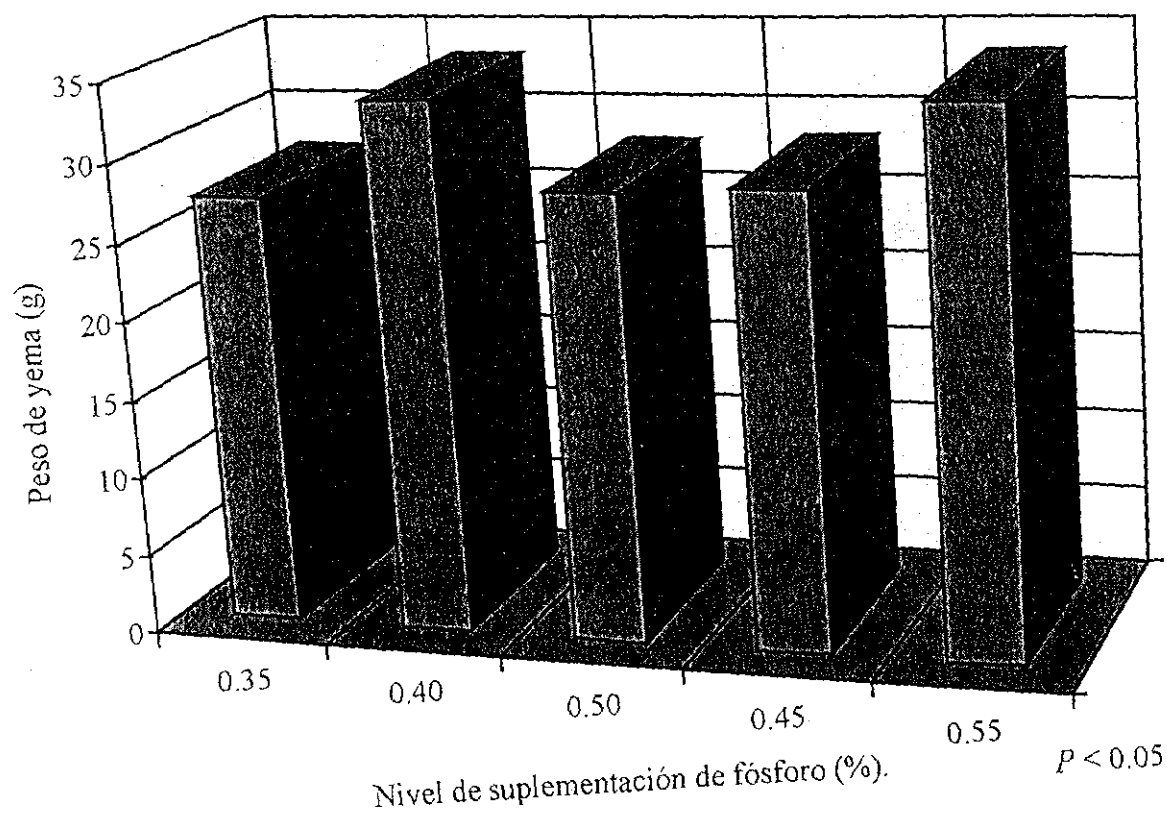
El peso de la yema de huevo fue en promedio de 30 gramos (base húmeda; Gráfica 2), presentando diferencias entre los niveles de suplementación ($P < 0.05$) y fecha de toma de muestra ($P < 0.05$; error estándar = 0.53), ya que solo a 0.55% el peso de esta fue similar entre D7 y D14 ($P > 0.05$; Cuadro 3). Siendo más constante el peso de yema con el tiempo de toma de muestra D7 y con D14 más variable (32.08 vs 29.67 gr, respectivamente). Se observó una interacción significativa entre el día de toma de muestra y nivel de suplementación para el peso de yema de huevo ($P < 0.05$).

Al utilizar otras fuentes y niveles de suplementación de 0.40 a 0.55% de fósforo en dieta, se observó un efecto significativo ($P < 0.05$) de la fuente del mineral sobre el peso de la yema de huevo, con valores similares entre las fuentes tanto al nivel más bajo como el más alto ($P > 0.05$). Pero, la roca fosfórica defluorinada provocó un peso de yema ligeramente más alto que el obtenido por la harina de hueso ($P < 0.05$). Además el peso de la yema se vio afectado por la interacción entre el nivel de suplementación del fósforo y la fuente evaluada ($P < 0.05$; Gráfica 3).

Gráfica 1. Efecto del nivel de suplementación de fósforo sobre la postura (%).



Gráfica 2. Efecto de la suplementación de fósforo sobre el peso de yema.

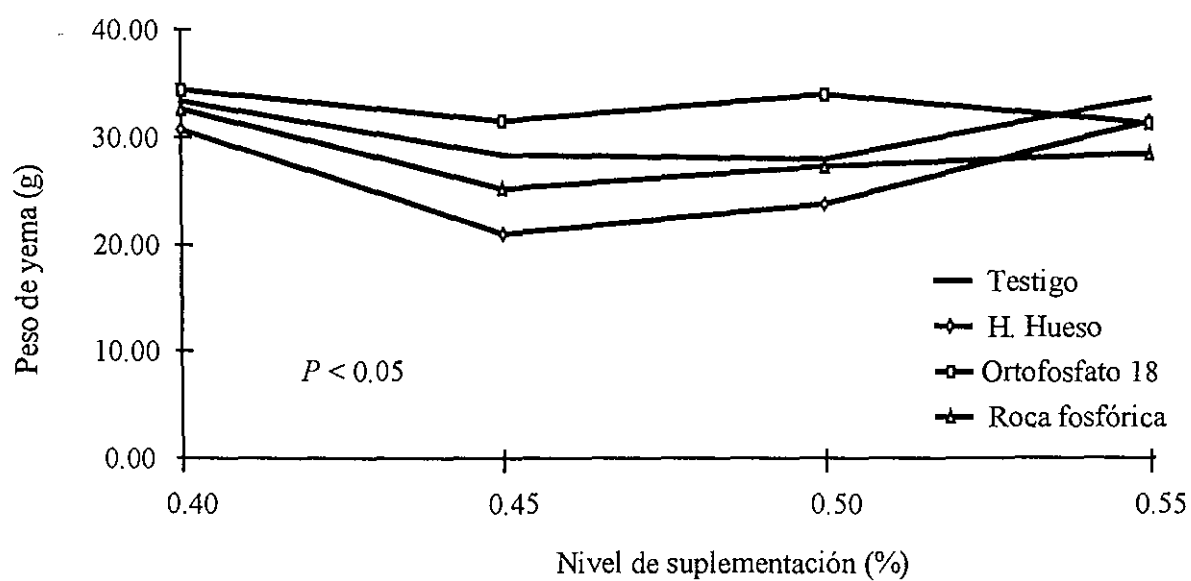


Cuadro 3. Peso de yema (g) por efecto del nivel de suplementación de fósforo y días de toma de muestra.

Suplementación de fósforo (%)	Toma de muestra (día)	
	7	14
0.35	29.40a	30.12b
0.40	34.05a	32.72b
0.45	31.81a	24.99b
0.50	29.06a	26.88b
0.55	33.38b	34.08b

a,b.- literal diferente por línea indican diferencia estadística ($P < 0.05$).

Gráfica 3. Efecto de la fuente y nivel de fósforo sobre peso de yema de huevo.



El día de toma de muestra *per se* afectó la concentración de fósforo en yema de huevo ($P < 0.05$; Gráfica 4; promedio 131 mg), en huevo ($P < 0.05$; Gráfica 5; promedio 153 mg) y en cascarón ($P < 0.05$; Gráfica 6; promedio 22 mg). En todos los casos la interacción entre la fecha de toma de muestra y el nivel de suplementación del mineral resultó significativa ($P < 0.05$). El incrementar el nivel de suplementación de fósforo en la dieta mostró, conjuntamente con el tiempo de toma de muestra D7, que la concentración de este mineral en la yema de huevo tendía a comportarse en forma ascendente y conservaba una relación con los niveles de suplementación ($P < 0.05$; Cuadro 4).

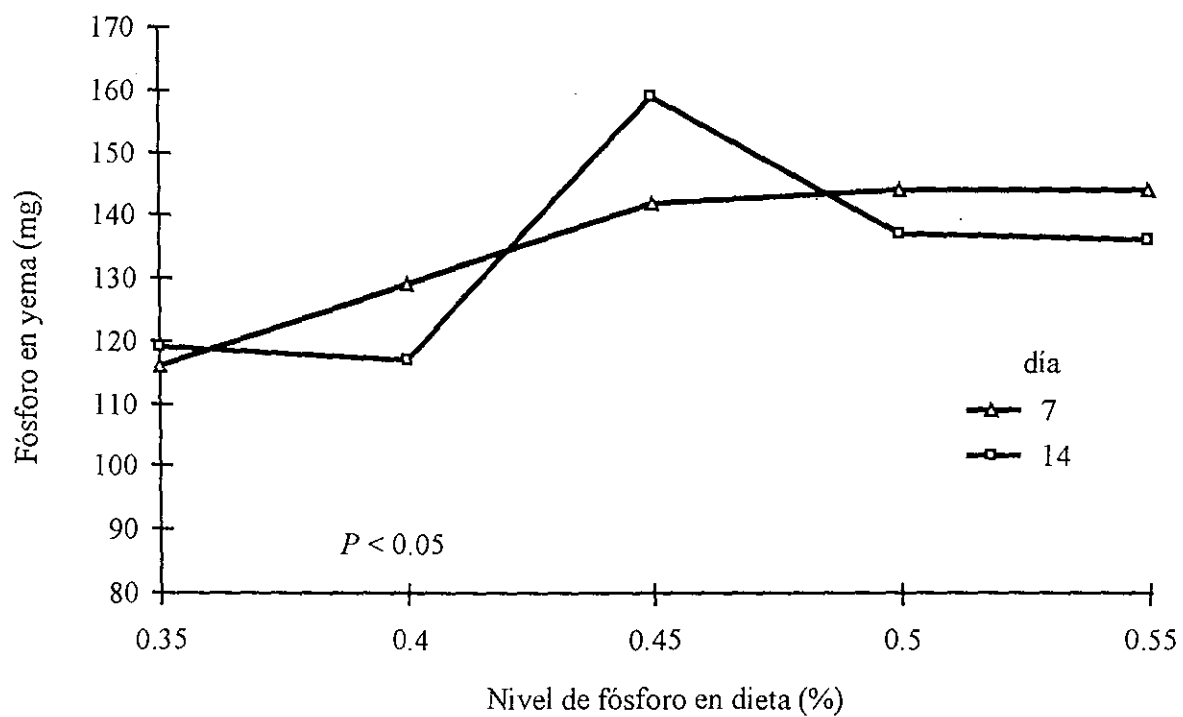
Además, en la primera parte del experimento, de presentar un comportamiento ligeramente cuadrático, se observó una alta correlación ($P < 0.054$; $r = 0.90$) entre el nivel de suplementación y el contenido de fósforo en yema de huevo.

Con los valores de respuesta (nivel de fósforo en yema; mg), de la primera parte del experimento, a la suplementación de fósforo en la ración y utilizando la regresión lineal, se obtuvo la siguiente ecuación:

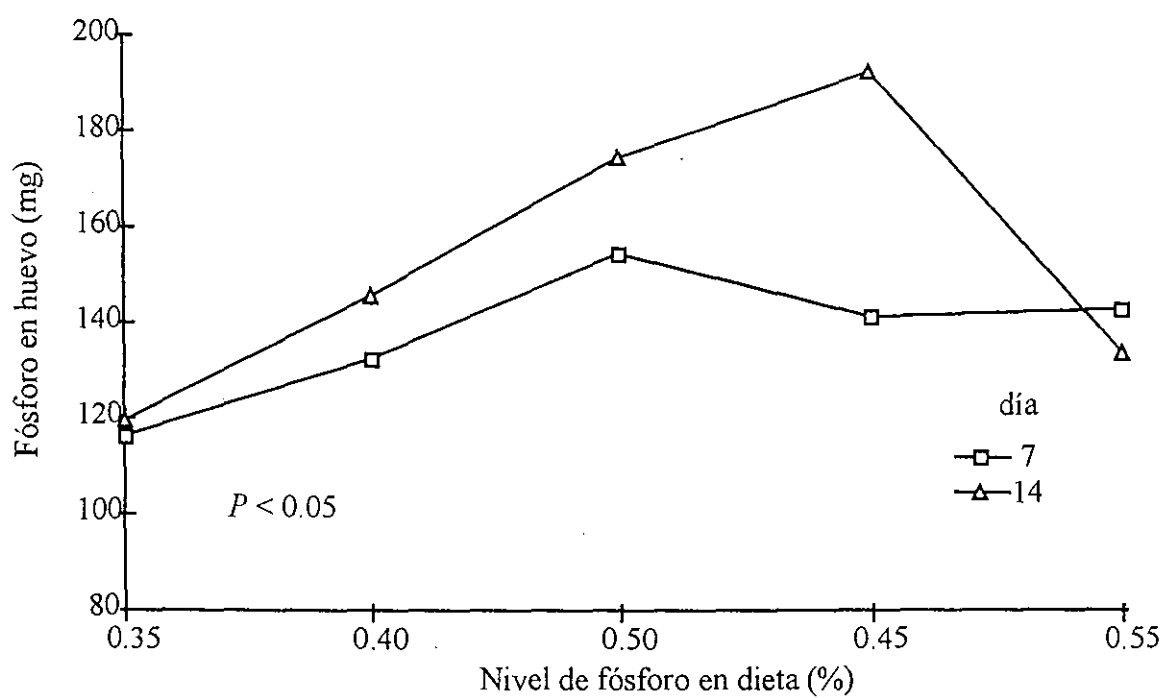
$$\text{Fósforo en yema} = 136 + 7.37 * (\text{nivel de suplementación}).$$

Por otro lado, al utilizar el día de toma de muestra D14, como período de medición de respuesta a la suplementación, también se observaron variaciones en el contenido del fósforo en yema, pero con una baja correlación ($P < 0.05$; $r = 0.42$) entre nivel y la respuesta, ya que con el nivel 0.45% de fósforo el contenido del mineral en yema de huevo se elevó en forma substancial, difiriendo marcadamente de los otros niveles ($P < 0.05$), pero conservando una cierta relación lineal.

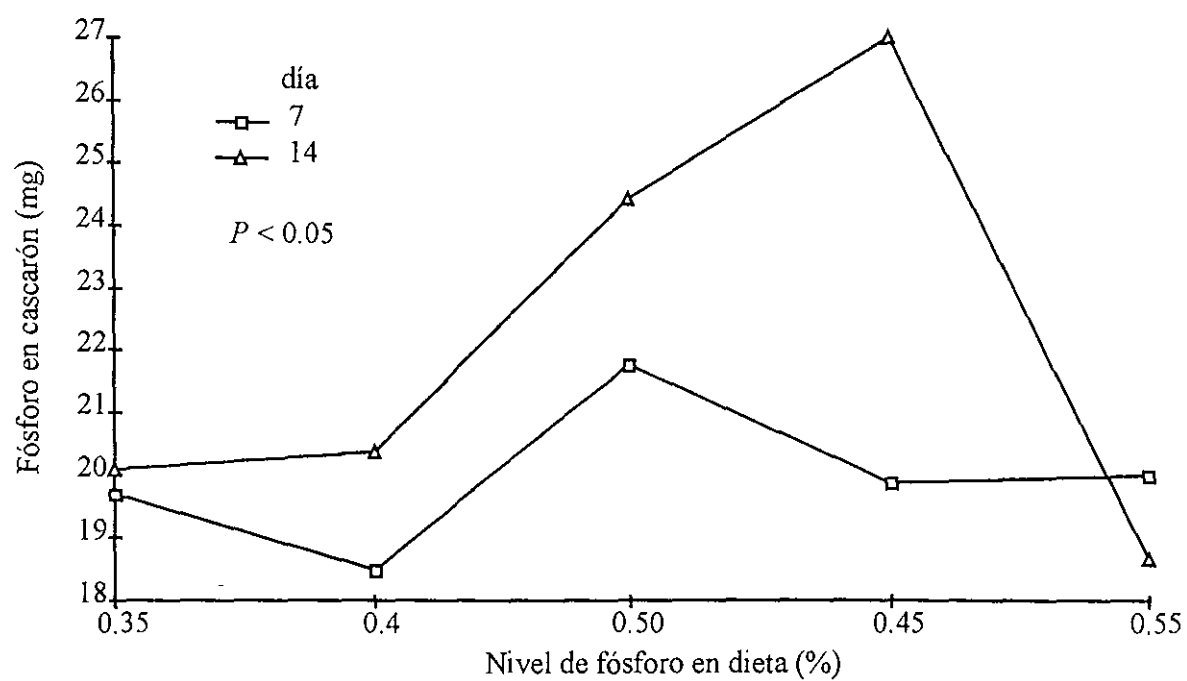
Gráfica 4. Efecto del día de toma de muestra sobre el contenido de fósforo en yema.



Gráfica 5. Efecto del día de toma de muestra sobre el contenido de fósforo en huevo.



Gráfica 6. Efecto del día de muestreo sobre el fósforo en cascarón.



Cuadro 4. Efecto del nivel de suplementación y fecha de toma de muestra sobre el contenido de fósforo en huevo (mg).

	Nivel de suplementación de fósforo (%)				
	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55
Yema					
7 días	116a	129b	142c	144c	144c
14 días	119a	117a	159b	137c	136c
Cascarón	19.7a	19.6a	24.8b	23.2b	20.5a
Huevo	140.7a	139.7a	177.0b	166.0b	146.7a

a,b,c. Literal diferente por línea indican diferencia estadística ($P < 0.05$).

Utilizando los resultados de concentración de fósforo en yema y su relación con la suplementación en la dieta y el día 14 como fecha de toma de muestra, se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\text{Fósforo en yema} = 106 + 8.76 * (\text{nivel de suplementación}).$$

Además, de ser afectado por el nivel y fecha de toma de manera separada, el contenido de fósforo en yema de huevo se vió afectado por la interacción ($P < 0.05$) entre el día de toma de muestra y el nivel de suplementación del mineral en la dieta.

La concentración acumulada del fósforo en el huevo promedió 152.75 mg y se vió afectada por el día de toma de muestra ($P < 0.05$), nivel de suplementación ($P < 0.05$), y por la interacción de ambos ($P < 0.05$). Presentando una baja correlación con el nivel de suplementación ($r = 0.33$).

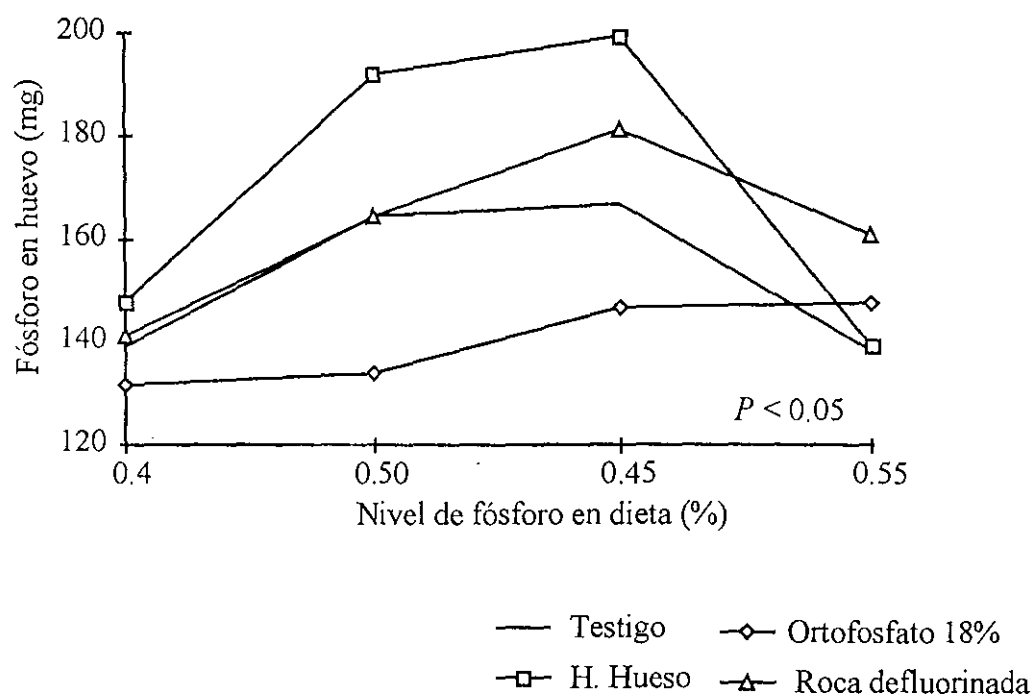
En la segunda parte del presente experimento, al suplementar el fósforo de la dieta con otras fuentes, y comparado con el ortofosfato 21% (testigo), las otras fuentes del mineral también tendieron a modificar de manera variable el fósforo en yema del huevo, en la mayor parte de los casos con tendencia ascendente, aunque con resultados menores a los observados con el ortofosfato testigo, a excepción de la harina de hueso que promovió concentraciones por encima del testigo (Cuadro 5; $P < 0.05$). Lo anterior se reflejó además de manera directa sobre la disponibilidad biológica del mineral (respecto al testigo), encontrándose un 110% durante D7 (Cuadro 6; $P < 0.05$) y de 97% en D14 (Cuadro 7; $P < 0.05$) para dicha fuente.

La concentración del mineral en yema, fue más variable con la roca fosfórica ($P < 0.05$), con un comportamiento más errático en su respuesta tanto al D7 como al D14 ($P < 0.05$; Cuadro 8), esta también variable con respecto a otras fuentes. Además, la disponibilidad biológica encontrada para fósforo proveniente de la roca fosfórica fue constante durante la toma de los 7 días comparando con la toma de muestra D14 ($P < 0.05$; Cuadro 6 y 7).

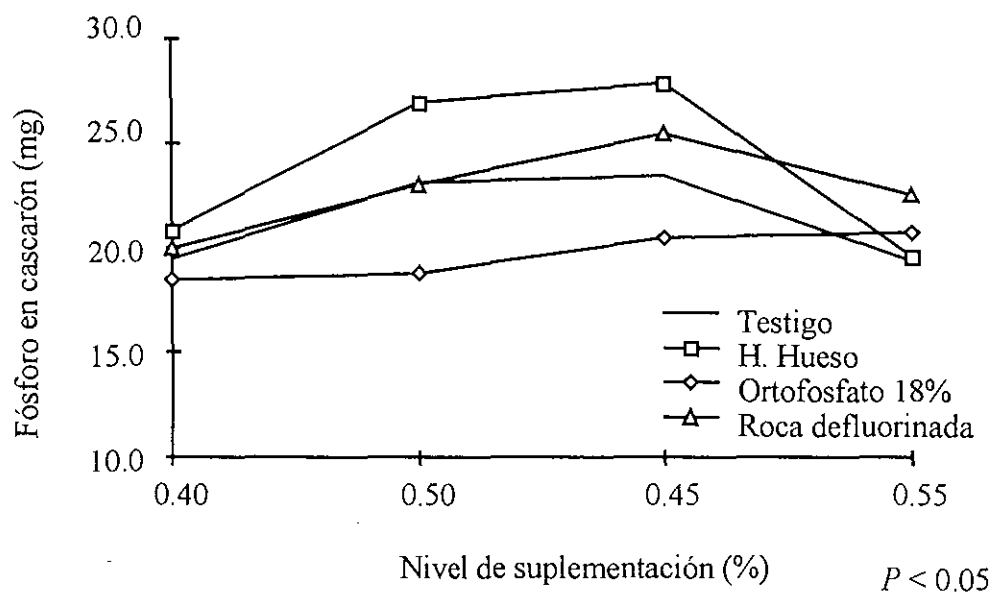
La roca fosfórica defluorinada mostró valores de 83% para D7 y de 98.4% para D14 ($P < 0.05$). En cambio, el ortofosfato de calcio 18% presentó una disponibilidad biológica de 86% D7 y de 85% el D14 (Cuadro 6 y 7). La harina de hueso en cambio mostró (Cuadro 6 y 7) una disponibilidad biológica similar (110% en D7 y 97% en D14) a la fuente de referencia ($P > 0.05$).

En general, la concentración total de fósforo en huevo fue en promedio de 156 mg, siendo afectada por la fuente de suplementación ($P < 0.05$; Gráfica 7), nivel ($P < 0.05$, Cuadro 4), y por la interacción de ambos efectos ($P < 0.05$). El contenido de fósforo en cascarón fue en promedio de 21.92 mg, con tendencia estadística similar a la observada con el parámetro precedente ($P < 0.05$; Gráfica 8). En ambos casos, los parámetros no fueron afectados por el día de muestra ($P > 0.05$).

Gráfica 7. Efecto de la fuente del mineral sobre fósforo en huevo.



Gráfica 8. Efecto de la fuente sobre el fósforo en cascarón.



Cuadro 5. Concentración de fósforo en yema (mg) como respuesta a la suplementación con diferentes fuentes del mineral, tomando muestra a los 7 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	127a	137a	142a	142a
Ortofosfato 18	98b	130a	117b	127ab
Harina de hueso	133a	182b	174a	117b
Roca fosfórica	111b	118a	108b	120b

a,b.- Literal diferente por columna indican diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 6. Disponibilidad biológica del fósforo (%) utilizando como parámetro de respuesta la concentración de fósforo en yema y toma de muestra a los 7 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	100a	100a	100ab	100a
Ortofosfato 18	77b	95a	82a	89b
Harina de hueso	105a	133a	122b	82b
Roca fosfórica	87b	86a	76a	84b

a,b.- Literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 7. Disponibilidad biológica (%) del fósforo usando como respuesta la concentración de fósforo en yema y toma de muestra a los 14 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	100a	100a	100a	100a
Ortofosfato 18	108a	66b	83b	83b
Harina de hueso	101a	86a	113a	86b
Roca fosfórica	107a	92a	110a	85b

a,b.- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

Cuadro 8. Concentración de fósforo en yema (mg) como respuesta a la suplementación con diferentes fuentes del mineral, tomando muestra a los 14 días.

Fuente	Nivel de suplementación (%)			
	0.40	0.45	0.50	0.55
Ortofosfato 21	114a	176a	133a	131a
Ortofosfato 18	123b	117b	110b	109b
Harina de hueso	115a	151a	148a	113b
Roca fosfórica	122b	162a	147a	112b

a,b,- literal diferente por columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

La falta de efecto sobre la postura puede deberse a un posible desequilibrio de la relación calcio:fósforo, ya que con este nivel no se alcanzó la relación recomendada (3:1) para mantener la producción adecuada, en cambio, con los otros fue poca la variación entre niveles, sin olvidar la edad de las aves de 100 semanas de producción y 29 de pelecha, sin embargo esta relación no es tan marcada en aves (5).

La diferencia de producción entre el inicio y final del experimento mostró un aumento cuando la suplementación de fósforo fue de 0.40% a 0.45%, encontrándose también relación con algunos trabajos donde se observó una mejora en la eficiencia productiva de las gallinas (2, 5, 50, 64). En el trabajo de Kechavarz (39), un aumento del nivel de fósforo en la dieta por encima de 0.45% no presentó efecto sobre la producción de huevo de pollas Babcock, reportando un nivel promedio de producción 71% a las 56 semanas de edad, lo cual pudo haber estado relacionado con la edad y con la utilización del fósforo de reserva, ya que el ave adulta con niveles de producción como el reportado en el presente trabajo no sufren de cambios drásticos.

Por otro lado, Schiedeler (64) observó niveles más elevados de producción que los del presente trabajo cuando el fósforo en la ración de aves de postura era de más de 0.45% y el NRC (50) recomienda el nivel de 0.40% de fósforo para no afectar la producción.

El contenido de fósforo en yema de huevo encontrado en el presente trabajo fue de 136 y 102 mg. con un promedio de 119 mg. Sin embargo, Cotteril (21) reportaron una concentración de 138 mg. de fósforo en yema de huevo, cantidad 11.3 mg más elevada que el promedio del presente estudio.

Por otro lado, la discrepancia existente en las ecuaciones obtenidas en las dos fechas de toma de muestra (D7 y D14) pudo deberse a la variación que puede existir en el nivel de fósforo en sangre, ya que Choi *et al.* (17) mostraron la existencia de variación de éste durante el ciclo productivo de pollas en postura. Sin embargo, en el presente experimento no se hicieron análisis de fósforo sanguíneo para apoyar tal aseveración.

Además, estos autores (17) no encontraron diferencias marcadas entre los niveles 0.22 y 0.60% de suplementación de fósforo, y su nivel sanguíneo, sugiriendo un nivel de 0.175% como límite mínimo para no afectar la concentración del elemento en sangre y probablemente la remoción del mineral en el cuerpo, principalmente para la formación del huevo.

En la presente prueba realizada con yema de huevo, y la concentración del mineral en cuestión, muestra que puede ser considerada como un criterio confiable de medición en el cambio de DB del fósforo presente en los ingrediente de los alimentos. Sin embargo, aún si el contenido de fósforo en yema es sensible a cambios con respecto del nivel en la dieta, se deberá evaluar el método para su estandarización utilizando otras fuentes, tanto comparativamente como cenizas de hueso (23, 24, 36, 60), así como otros parámetros utilizables como respuesta y de determinación de disponibilidad biológica (11, 15, 24, 29, 60, 64, 71, 72, 73).

En cambio, la roca fosfórica defluorinada mostró valores de 83% para el tiempo de muestra D7 y de 98.4% para D14, estudios donde se ha utilizado la concentración de fósforo en cenizas óseas han reportado un DB de 70 a 90% para las rocas con bajo contenido de flúor (1, 4, 36, 73, 74).

El resultado precedente resulta algo confuso, ya que la fuente debió tener una alta disponibilidad biológica del mineral dado que ambos tanto fuente a probar y la referencia eran ortofosfatos que solo discrepaban en la cantidad de fósforo. Sin embargo, el resultado se conservó entre los dos tiempos de toma de muestra, lo que ratifica la utilidad del método de evaluación. Se ha reportado hasta 100% de DB para esta fuente de mineral (73) sin olvidar que rocas mal defluorinadas o con alto contenido de flúor tienen una DB baja (7, 35, 73).

La harina de hueso mostró una DB similar (110% en D7 y 97% en D14 respecto a la fuente de referencia). López (42) reportó para la harina de hueso una disponibilidad biológica de 80-90% con respecto a un ortofosfato de calcio puro, otros (73, 74, 77) consideraron un 90-100% y Ávila (5) un 96%, Pérez (56) reportó un 97.47% valor similar a lo obtenido por de Groote (26), resultados que son similares a los encontrados con la fuente evaluada en el experimento y tomando como parámetro de respuesta el contenido de fósforo en yema de huevo y las variaciones con respecto a el nivel de suplementación del mineral en la dieta.

Por lo antes descrito y en base a los valores de disponibilidad biológica encontrados utilizando otros criterios de respuesta, se puede concluir que el método propuesto en el presente trabajo puede ser recomendado para evaluar las fuentes de mineral utilizadas en nutrición animal. Sin embargo, se deben de correr más pruebas para obtener una base de datos que validen bajo otras condiciones el método, para formar un marco de referencia.

CONCLUSIONES

1. El contenido de fósforo en yema de huevo varía en forma ascendente con el nivel de suplementación.
2. El día de toma de muestra tuvo influencia en el criterio de respuesta considerado en este trabajo.
3. La medición del fósforo en yema de huevo reviste posibilidad para su estandarización como método confiable para medición de la biodisponibilidad mineral.
4. La posibilidad de repetición de pruebas con los mismos sujetos de experimentación hacen más confiable los resultados.
5. Se hace necesario el comprobar el método utilizando estas fuentes de fósforo con la finalidad de comprobar su funcionamiento y adaptabilidad.

LITERATURA CITADA

1. Akpe, M.P. y P.E Waibel. 1988. Attempt to relate feed supplement phosphorus solubility to bioavailability for turkeys. *J. Anim. Sci.* 67:54. (Resumen).
2. Antillon, R.A. 1988. Fisiopatología de la deficiencia de fósforo en las aves. 1er. simposium; el fósforo en la nutrición animal. México, D.F. Pág. 57-98.
3. Ashmead, D., y H. Chirly. 1985. Intestinal absorption of minerals. *Animal nutrition and health.* 40 (7):10-13.
4. Association of oficial agriculture chemists. 1990. Official methods of analysis. 15th. Edition. AOAC (edit). Washington, D.C. USA.
5. Avila, G.E. 1988. Biodisponibilidad del fósforo en fuente inorgánicas para aves. 1er. simposium; el fósforo en la nutrición animal. Pág. 129-137.
6. Bayley, H.S., Arthur B., Bowman G.H. y R.G. Thompson. 1975. Influence of dietary phosphorus level on growth and bone development in boars and gilts. *J. Anim. Sci.* 40:864-870.
7. Borrego, A. 1988. El fósforo y su disponibilidad biológica. *Síntesis avícola.* 12:10-13.
8. Boyd, R.D., Hall D, y J.F. Wu. 1983. Plasma alkaline phosphatase as a criterion for determining biological availability of phosphorus for swine. *J. Anim. Sci.* 57:396-401.
9. Buenrostro, S.J.L. 1979. Use of plasma and egg-yolk biotin of white Leghorn hens to assess biotin availability from feedtuffs. Ph.D. Thesis. University of Davis, California.
10. Burnell, T.W., Cromwell G.L., y T.S. Stahly. 1988. Sources and particle size of phosphorus supplements for pigs. *Proc. 10th. Congress of the International Pig Vet. Soc.* Pág. 353-354.

11. Burnell, T.W., Cromwell G.L. y T.S. Stahly. 1988. Bioavailability of phosphorus in high protein feedstuffs for pigs. *J. Anim. Sci.* 66:317. (Resumen).
12. Caballero, F.E., y G.E. Ávila. 1979. Disponibilidad biológica de varias fuentes de fósforo inorgánico para pollos. *Vet. Méx.* 10:111-114.
13. Cakir, A., Sullivan T.W., y F.J. Strune. 1977. Effect of supplemental aluminum on the value of fertilizer phosphate in turkey diets. *Poult. Sci.* 56:544-549.
14. Casarin, V.A. 1988. El fósforo en la alimentación de cerdas. 1er. simposium: el fósforo en la nutrición animal. México, D.F. Pág. 49-48.
15. Castellanos, R.F., Moquel O.Y., y C.J.G. Carton. 1997. Predicción de la biodisponibilidad de las fuentes fosforadas mediante la técnica de solubilidad cítrica del fósforo. *Téc. Pec. Méx.* 35:39-46.
16. Coffey, R.D., Mooney KW., Cromwell G.L., y D.K. Aaron. 1994. Biological availability of phosphorus in defluorinated phosphates with different phosphorus solubilities in neutral ammonium citrate for chick and pig. *J. Anim. Sci.* 72:2653-2660.
17. Chapeau, C., Engelhardt H., King G.J., y R.J. Steches. 1996. Alkaline phosphatase activity in the theca of ovarian follicles of the hen throughout follicular development. *Poult. Sci.* 75:1536-1545.
18. Choi, J.H., Millers R.D., y R.H. Herms. 1979. The phosphorus excretion pattern and balance during one egg cycle of the laying hen fed a phosphorus deficient diet with or without a single dose of phosphoric acid. *Poult. Sci.* 58:1535-1540.
19. Coffey, R.D., y G.L. Cromwell. 1995. Bioavailability of phosphorus of cereal grains by chick bioassays. *Poult. Sci.* 74:87. (Resumen).

20. Cornejo, C., Salazar P.J., González J. y J. Pokniak. 1998. Evaluación biológica de dos fosfatos dicalcicos con pollos broilers hasta peso comercial de sacrificio. X Congreso nacional de medicina veterinaria. Valdivia, Chile. *Anales de Medicina Veterinaria*. 30:97-98.
21. Cotterill, D.J., Mrion W.W., y E.C. Naber. 1997. A nutrient re-evaluation of shell eggs. *Poult. Sci.* 56:1927-1934.
22. Cromwell, G.L., Hays V.W., Scherer C.W., y J.R. Overfield. 1972. Effects of dietary calcium and phosphorus on performance and carcass, metacarpal and turbinate characteristics of swine. *J. Anim. Sci.* 34:746-751.
23. Dale, N. 1997. Tres perspectiva sobre el fósforo. *Ind. Avícola*. 44-36-42.
24. Dallaert, B.M., van der Peer G.F.U., Jongbloed A.W., y S. Beer. 1990. A comparison of different techniques to assess the biological availability of feed phosphorus in pig feeding. *Neth. J. Agric. Sci.* 58:555-559.
25. Damron, B.L., y R.H. Harms. 1969. A comparison of phosphorus assay technique with chicks evaluation of a proposed calcium standard curve for calcium phosphate, soft phosphate and defluorinated phosphate. *Poult. Sci.* 10:327-330.
26. Damrom, B.L., y L.K. Fluncker. 1988. Precipitated bone phosphate in broiler chick diets. *Poult. Sci.* 67:1302-1305.
27. De Groote, G.T. 1986. Biological availability of phosphorus in feed phosphate for broilers. *Zoot. Int.* 19:46-50.
28. Denbow, D.M., Ravindran V., Kornegar Z.V., y R.M. Hulet. 1995. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. *Poult. Sci.* 74:1831-1842.

29. Escamilla, G.I. 1988. La importancia del fósforo como nutrimento. 1er. simposium: el fósforo en la nutrición animal. México, D.F. Pág. 25-35.
30. Fammatre, C.A., Mahan D.C., Fetter A.W., Grifo A.P. y J.K. Judy. 1977. Effects of dietary protein, calcium and phosphorus levels for growing and finishing swine. J. Anim. Sci. 44:65-71.
31. Fontaine, N., Fourdin A., y A. Pointillard. 1985. Abscence d'effect de la vitamine D sur le phytate, et la phosphatase alcaline intestinales; relation avec l'absorption du phosphore phytique chez le porc. Reprod. Nutr. Develop. 25:171, 727.
32. Gillis, M.B., Norris L.C., y G.F. Heuser. 1953. Studies on the biological value of inorganic phosphates. Poult. Sci. 32:977.
33. Grimbergen, A.H.M., Cornelessen J.P., y H.P. Stappers. 1985. The relative availability of phosphorus in inorganic feed phosphates for young turkeys and pigs. Anim. Feed Sci. Technol. 13:117-130.
34. Harrold, E.L., Slanger W.D., Jaugse C.N., y R.L. Johnson. 1983. phosphorus bioavailability in the chick, effects on protein source and calcium level. J. Anim. Sci. 57:1173-1181.
35. Hays, V.W., y M.J. Swenson. 1984. Minerals and bones. En: Dukes physiology of domestic animals. 10th. edition. Cornell University Press. Pág. 449-457.
36. International minerals and chemical corporation. 1973. El calcio y el fósforo en la nutrición animal. Informe del departamento de servicio técnico.
37. Jacobson, R.W., Button F.S.H., y R.H. Hatton. 1972. Mineral nutrition, calcium, phosphorus, magnesium and potassium interrelationships. J. Dairy Sci. 55:935-944.

38. Jackson, J.A., Langer D.L., y R.W. Hemken. 1998. Evaluation of content and source of phosphorus fed to dairy calves. *J. Dairy Sci.* 71:2187-2192.
39. Kechavarz, K. 1986. Effect of dietary level of calcium and phosphours on the performace and retention of these nutrients by laying hens. *Poult. Sci.* 65:114-121.
40. Kornegay, E.T., Thomas H.R., y T.N. Meacham. 1973. Evaluation of dietary calcium and phosphorus for reproducing sows housed in total confinement on concrete or in dirt lots. *J. Anim Sci.* 37:493-50.
41. Latshaw, J.D. 1984. Selenium availability. Mineral nutrition. *Feedstuffs.* 56 (53):17.
42. López, C.C. 1988. El fósforo en la formulación para aves. 1er. simposium: el fósforo en la nutrición animal. México, D.F. Pág. 213-215.
43. Michel, N. 1988. Revisión sobre interacciones fósforo/flúor. 1er. simposium: el fósforo en la nutrición animal. México, D.F. Pág. 100-105.
44. Michel, W., Squires S., y E. Naber. 1993. Vitamin profiles of eggs as indicator of nutritional status in the laying hen: vitamin study. *Poult. Sci.* 72:154-164.
45. Michel, W., Squires S., y E. Naber. 1993. Vitamin profiles of eggs as indicator of nutritional status in the laying hen: riboflavin study. *Poult. Sci.* 72:483-494.
46. Miller, J.W. 1981. Biological value of different sources of inorganic trace elements. *Feedstuffs.* 53 (13):20-23.
47. Miller, E.R., Harmg R.H., y H.R. Nilson. 1977. Cyclic changes in serum phosphorus of laying hens. *Poult. Sci.* 56:586-589.

48. Miller, W.J., Neathery M.W., Gentry R.P., Blackmon D.M., Crowe C.T., Ware G.O., y A.S. Fielding. 1987. Bioavailability of phosphorus from defluorinated and dicalcium phosphates, and phosphorus requeriment of calves. *J. Dairy Sci.* 70:1885-1892.
49. Motzok, I., Arthur D., y H.D. Branion. 1956. Utilization of phosphorus from various phosphate supplements by chicks. *Poult. Sci.* 35:627-648.
50. National Research Council. 1994. Nutrient requeriment of domestic animals. 1. Nutrient requeriment of poultry. 9th. Revised edition. National. Academy of Science. Washington. D.C., U.S.A.
51. Nelson, T.S., y A.C. Walker. 1963. The biological evaluation of phosphorus compounds. *Poult. Sci.* 43:94-98.
52. Nwokolo, E.N., Bragg D.B., y W.D. Kitts. 1976. A method for estimating the mineral availability in feedstuffs. *Poult. Sci.* 55:2217-2221.
53. Orban, J.L. y D.A. Roland. 1987. Effects of particle size on availability of phosphorus from chicken bone meal. *Poult. Sci.* 66:32. (Resumen).
54. Parmer, T.G., Carew L.B., Alsteri A, y C.G. Scanes. 1987. Thyroid function of growth hormone and organ growth in broilers deficient in phosphorus. *Poult. Sci.* 66:1995-2004.
55. Peeler, H.T. 1972. Biological availability of nutrients in feeds, availability of major mineral ions. *J. Anim. Sci.* 35:695-712.
56. Pérez, G.M.H. 1987. Disponibilidad biológica del fósforo de 6 fuentes por método de ceniza en tibia. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Univ. de Guad.

57. Phillippy, B.Q., White K.D., Johnston M.R., Tao S.H., y M.R.S. Fox. 1987. Preparation of inositol phosphates from sodium phytate by enzymatic and nonenzymatic hidrolysis. *Analytical Biochemistry*. 162:115-121.
58. Potchanakor, M., y L.M. Potter. 1987. Biological values of phosphorus from various sources for young turkeys. *Poult. Sci.* 66:505-513.
59. Potter, M. 1987. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and toe ash measurements. *Poult. Sci.* 67:96-102.
60. Ravidron, V.E.T., Kornegay L.M., Potter B.O., Ogunabomeru, M.K., Welton, U.H.N., y M. Potchanakor. 1995. An evaluation of various response criterias in assessing biological availability of phosphorus for broilers. *Poult. Sci.* 94:1820-1830.
61. Romero, P.R.J., Fonseca V.A., Santiago G.E., Vera G.E., y D.M. Pérez. 1988. Evaluación de una dieta semipurificada para estudios sobre disponibilidad biológica de minerales en rumiantes. XIV Congreso Nacional de Buiatría. Pág. 64-65.
62. Rous, W.B., Mylet M., Rosenberger J.L., y J. Derr. 1986. Investigation of calcium and available phosphorus requeriments for laying hens by response surface methodology. *Poult. Sci.* 65:964-970.
63. SAS. 1985. SAS user's guide: Statistics (Version 5 Ed.). SAS Institute, Inc., Cary, NC. USA.
64. Scheideler, S.E., y J.L. Sell. 1988. Influence of dietary calcium on phosphorus absorption and excretion and on phosphorus distribution in laying hens. *Poult. Sci.* 67:440-444.
65. Singsen, E.P., Matterson L.D., Tlutohowics J.J., y W.J. Pudelkiewicz. 1969. Phosphorus in the nutrition of the adult hen. The relative availability of phosphorus from several sources for caged layers. *Poult. Sci.* 48:387-392.

66. Soares, J.H., Swerdel M.R., y E.H. Bossard. 1977. Vitamin D metabolites and phosphorus utilization. Proc. Maryland nutrition conference for feed manufacturers. Maryland, U.S.A. March 17-18. Pág. 21-31.
67. Soares, J.H., Swerdel M.R., y E.H. Bossard. 1978. Phosphorus availability; the effect of chick age and vitamin D metabolites on the availability of phosphorus in defluorinated phosphate. Poult. Sci. 57:1305-1312.
68. Squires, M.W., y E.C. Naber. 1992. Vitamin profile of eggs as indicator of nutritional status in the laying hen: vitamin B₁₂ status. Poult. Sci. 71:2075-2082.
69. Standish, J.F., Ammerman C.B., Palmer A.Z. y C.F. Simpson. 1971. Influence of dietary iron and phosphorus on performance, tissue mineral composition and mineral absorption in steers. J. Anim. Sci. 33:171-178.
70. Steel, J., y M. Torrie. 1986. Estadística, principios y procedimientos. MacGraw Hill Edit. México. Pág. 321.
71. Steinsberger, S.C., Ort J.F., y J.C.H. Shih. 1986. Composition and phosphorus bioavailability of solid by product from anaerobically digested waste from caged layer hens. Poult. Sci. 66:634-639.
72. Strong, D.R., y C.H.F. Yke. 1978. Changes in the plasma contents of calcium phosphorus and yolk lipoprotein precursor during production season in Turkey. Poult. Sci. 57:1710-1719.
73. Sullivan, T.W., Douglas J.H., Gonzalez N.J., y P.L. Bord Jr. 1992. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, diluted hydrogen chloride, diluted citric acid and neutral ammonium citrate. Poult. Sci. 71:2065-2074.
74. Sullivan, T.W., Douglas J.H., Lapjatupan N., Struwe E.J., y N.J. González. 1994. Biological value of bone precipitated dicalcium phosphate for turkey starter diet. Poult. Sci. 73:122-128.

75. Summer, J. 1995. Reduced phosphorus levels for layers. *Poult. Sci.* 74:1977-1983.
76. Taylor, T.G. 1979. Availability of phosphorus in animal feed. Recent advances in animal nutrition. Pág. 23-33.
77. Tejada, I. 1988. Diferentes pruebas para determinar fósforo soluble en dos fuentes comunes en México y su interpretación. 1er. Simposium: el fósforo en la nutrición animal. M.exico, D.F. Pág. 76-99.
78. Waibel, P.E., Nahorniak N.A., Dziuk H.E., Walser M.M., y W.G. Olson. 1983. Bioavailability of phosphorus in commercial phosphate supplements for turkeys. *Poult. Sci.* 63:730-737.
79. Wilson, J.H. 1991. Bone strength of cayed layers as affected by dietary calcium and phosphorus concentration, reconditioning and ash content. *Br. Poult. Sci.* 32:501-505.
80. Witt, K.E. y F.N. Owens. 1983. Phosphorus; ruminal availability and effects on digestion. *J. Anim. Sci.* 56:930-937.
81. Van der P.J., Fahey G.C., Rickes S.C., Allen S.E., y L.L. Berger. 1983. Effects of dietary fiber on mineral status of chicks. *J. Nutr.* 113:653-661.
82. Yi, Z, Kornegay E.T., Ravindram V., Lideman M.D., y J.H. Wilson. 1996. Effectiveness of natuphos phytate in improving the bioavailability of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified diet for young pigs. *J. Anim. Sci.* 74:701-709.