

# EFECTO DE LA VITAMINA $1\alpha\text{OH-D}_3$ , Y $25\text{-OH-D}_3$ SOBRE LOS ÍNDICES DE DESEMPEÑO Y LA MINERALIZACIÓN ÓSEA EN POLLITAS COMERCIALES

## EFFECT OF VITAMIN $1\alpha\text{OH-D}_3$ AND $25\text{-OH-D}_3$ ON PERFORMANCE INDICES AND BONE MINERALIZATION IN COMMERCIAL PULLETS

Carlos Augusto González<sup>1</sup>, Javier Eduardo Chica<sup>2</sup>, Rolando Barahona<sup>3</sup>

<sup>1</sup>M.Sc., Profesor. Universidad Nacional de Colombia, calle 59A No.63-20, Autopista Norte, Medellín, Antioquia, Colombia, e-mail: cagonzalez@unal.edu.co; <sup>2</sup>M.Sc. Centro de Investigación y Medición PREMEX S.A., carrera 50 No. 2 Sur-251, Autopista Sur, Medellín, Antioquia, Colombia, e-mail: javier.chica@premex.corp.com; <sup>3</sup>M.Sc., Ph.D. Universidad Nacional de Colombia, calle 59A No.63-20, Autopista Norte, Medellín, Antioquia, Colombia, e-mail: rbarahonar@unal.edu.co

Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. 18(1): 155-162, Enero-Junio, 2015

### RESUMEN

En sistemas de alojamiento de alto confinamiento, se presentan mayores incidencias de huevos rotos, fatiga de jaula y discondroplasia tibial, que han sido asociados a bajas concentraciones sanguíneas del metabolito activo de la vitamina D [ $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ ], durante el periodo de mayor crecimiento de la tibia. En el presente trabajo, se evaluaron cuatro tratamientos: Una dieta control a base de maíz y soya, con la adición de g por tonelada, 50 de fitasa como tratamiento control; 12,5 de 1 alfa-hidroxi-colecalciferol o  $1\alpha\text{OH-D}_3$  "On Top"; 12,5 de  $1\alpha\text{OH-D}_3$  "matrizada" y 5,52 de 25-hidroxi-colecalciferol o  $25\text{-OH-D}_3$  "On Top". Se usó un diseño completamente al azar, con seis repeticiones, utilizando 960 pollitas Lohmann Brown, de cuatro semanas de edad, alojadas en 24 corrales, con 40 aves cada uno. No hubo diferencias estadísticas en peso promedio a las 16 semanas (1493g), conversión alimenticia (4,61), ni en mortalidad entre las aves asignadas a los diferentes tratamientos. La longitud de la canilla no fue diferente entre las aves recibiendo los diferentes tratamientos, siendo de 5,58, 7,97, 9,51 y 10,1cm a las 4, 8, 12 y 16 semanas, respectivamente. Tampoco el contenido de minerales (%) en los huesos fue influenciado por la fuente ni por el nivel de inclusión de la vitamina  $\text{D}_3$ , siendo en promedio 21,64 para calcio, 17,18 para fósforo y 38,54 para cenizas; sin embargo, la inclusión de la vitamina  $1\alpha\text{OH-D}_3$  matrizada representó una reducción de 1,0% en el costo de alimentación de cada ave, comparada con el uso  $25\text{-OH-D}_3$  "On Top".

Palabras clave: Conversión alimenticia, deposición de calcio, longitud de tibia, mineralización ósea, vitamina D.

### SUMMARY

In high-confinement poultry production systems, there is high incidence of broken eggs, cage fatigue or tibial dyschondroplasia, which is part of a set of skeletal changes that reduce bird welfare, problems that have been associated with low blood circulating levels of the active metabolite of vitamin D ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{-vitamin D}_3$ ) during the period of greatest tibia growth. In the present study, four treatments were evaluated: a control diet based on corn and soybean with 50g phytase per ton as a control treatment; 12.5g 1 alpha-hydroxy-cholecalciferol or  $1\alpha\text{-OH D}_3$  "On Top"; 12.5g of  $1\alpha\text{-OH D}_3$  "matrixed" or 5.52g of 25-hydroxy-cholecalciferol or  $25\text{-OH-D}_3$  "On Top". A completely randomized design with six replications using 960 Lohmann Brown pullets four weeks of age, housed in 24 pens with 40 birds each was used. There were no statistical differences for the average weight at 16 weeks (1493g), feed conversion (4.61) or mortality among birds assigned to different treatments. Tibia length did not differ between birds receiving different treatments, being 5.58, 7.97, 9.51 and 10.1cm at 4, 8, 12 and 16 weeks, respectively. Likewise, mineral content (%) in bone was not influenced by the source or by the inclusion level of vitamin  $\text{D}_3$ , averaging 21.64 for calcium, 17.18 for phosphorus and 38.54 for ashes. However, the inclusion of vitamin  $1\alpha\text{-OH D}_3$  matrixed represented a 1.0% reduction in feed costs compared with the use of  $25\text{-OH-D}_3$  "On Top".

Key words: Bone mineralization, calcium deposition, feed conversion, tibia length, vitamin D.

## INTRODUCCIÓN

La vitamina D<sub>3</sub> es requerida por las aves para el adecuado metabolismo del calcio y fósforo y su acción, junto con la paratohormona, contribuye a mantener el nivel sanguíneo de calcio, necesario para la formación del esqueleto óseo, pico, uñas y la cascara del huevo (Agudelo González, 2008; Goncalves *et al.* 2010). Se aplica el nombre de vitamina D a dos componentes: El ergocalciferol o vitamina D<sub>2</sub> y el colecalciferol o vitamina D<sub>3</sub> (Mattila *et al.* 2004; Agudelo González, 2008). D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> dietarios son absorbidas a través del intestino delgado y luego transportadas por sangre hasta el hígado, donde se convierten a 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>), la principal forma de circulación de la vitamina D<sub>3</sub>, que es transportada a los riñones, donde se convierte a 1,25 dihidroxi-colecalciferol (1,25-OH<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), el cual, es la forma metabólica más activa de la molécula (Khan *et al.* 2010).

De acuerdo a lo reportado por Kanis (1982), más que una vitamina, la vitamina D se podría considerar como una pre hormona, ya que es precursora de una hormona renal, la 1,25 di-hidroxi-vitamina D<sub>3</sub> [1,25- (OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>], que ejerce funciones metabólicas, llamadas nucleares y no nucleares (Atencio *et al.* 2006; González & Barahona, 2014). En la industria avícola, la vitamina D<sub>3</sub> es incluida en concentraciones muy altas en la dieta, lo que, normalmente, obedece a la necesidad de contar con un factor de seguridad, debido a las variabilidades reportadas en la actividad de esta enzima y así prevenir la incidencia de anomalías de piernas, en el caso de pollos de engorde, y la reducción en la calidad de huevos, en el caso de gallinas ponedoras (Applegate *et al.* 2003; Mattila *et al.* 2004).

Aunque las deficiencias de vitamina D generan bajos crecimientos esqueléticos y mineralización defectuosa, mejoras en el crecimiento y la mineralización del esqueleto, no constituyen evidencia inequívoca de que la 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> u otro metabolito de la vitamina D tenga efectos directos sobre huesos y cartílagos (Kanis, 1982). La 25-(OH)-D<sub>3</sub> es el compuesto más potente para estimular la mineralización ósea. La 1α OH D<sub>3</sub> es un análogo sintético de la 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> que carece del grupo hidroxilo, en la posición del carbono 25. Se ha reportado que la 1αOH-D<sub>3</sub> y la 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> son diez veces más activas que la D<sub>3</sub> en la movilización ósea (Edwards *et al.* 2002); de igual forma, se ha demostrado que la suplementación con 1αOH-D<sub>3</sub> tiene efectos cualitativos y cuantitativos, similares a los de la fitasa exógena (Driver *et al.* 2005), una enzima que se utiliza para aumentar la biodisponibilidad de fósforo, a partir de ácido fítico, en materias primas alimenticias, de origen vegetal (Chung *et al.* 2013). En consecuencia, varios hidroxilados análogos de la vitamina D<sub>3</sub>, incluyendo la forma hormonal de la vitamina o 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> y análogos sintéticos, como la 1αOH-D<sub>3</sub>, han sido usadas para mejorar la utilización del fósforo fítico en pollitos de engorde, bajo condiciones experimentales (Biehl

*et al.* 1995; Han *et al.* 2013; Guerra *et al.* 2014). Se cree que uno de los cambios que ha tenido la selección genética de los pollos modernos ha sido la disminución de su capacidad de formar 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> a partir de la 25-OH-D<sub>3</sub>, de ahí la ventaja de alimentar con 1αOH-D<sub>3</sub> (Edwards *et al.* 2002).

Cuando se usa 1αOH-D<sub>3</sub> con fitasa es posible reducir los niveles de fósforo disponible a los más bajos, sin aumentar la incidencia de problemas óseos (Driver *et al.* 2005). Suministrando 5μg/kg de 1αOH-D<sub>3</sub> en el alimento, se puede reducir el calcio y el fósforo disponible dietario en 0,1%, cada uno; pero suministrado con fitasa, estos niveles se pueden reducir en 0,2%, para el calcio y 0,15%, para el fósforo disponible, sin el riesgo de fracturas de patas o incidencia de discondroplasia tibial (Driver *et al.* 2005). El presente trabajo tuvo como propósito evaluar el efecto del uso de la 1αOH-D<sub>3</sub> con fitasa, en una dieta a base de maíz y soya, en los índices de desempeño y de mineralización ósea en pollitas de reemplazo, comparada con el uso de la 25-OH-D<sub>3</sub> y la vitamina D<sub>3</sub>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Un total de 960 pollitas Lohmann Brown, de 28 días de edad, fueron distribuidas aleatoriamente en 24 corrales experimentales, con 40 aves cada uno, asignándose seis corrales a cada uno, de los cuatro tratamientos empleados.

Las aves recibieron un alimento balanceado basado en maíz y torta de soya, de acuerdo con la etapa productiva en que se encontraron, siguiendo los estándares recomendados por la NRC (1994). Las dosis de las moléculas de vitamina D<sub>3</sub> empleadas en el ensayo fueron las recomendadas por la empresa fabricante de la molécula, que corresponde a 12,5g/ton de 1αOH-D<sub>3</sub>, que equivale a 5 μg/kg de Vitamina D<sub>3</sub>, en el alimento y de 5,52g/t de 25-OH-D<sub>3</sub>, que equivale a 6,9μg/kg de vitamina D<sub>3</sub>, valores cercanos a los recomendados por NRC (1994), para pollas de reemplazo.

Los tratamientos empleados fueron: **Tratamiento 1 o control:** Dieta basal con la inclusión de una fitasa comercial, a razón de 50g por tonelada de alimento; **Tratamiento 2:** dieta basal, con la adición de vitamina 1αOH-D<sub>3</sub>, a razón de 12,5g por tonelada, sin tener en cuenta, en la formulación, los aportes de calcio y fósforo (On Top); **Tratamiento 3:** dieta basal, con la adición de la vitamina 1α OH-D<sub>3</sub>, a razón de 12,5g por tonelada de alimento, estimando un aporte de 0,05% de Ca y 0,05% de P disponible en la formulación (Matrizada) y **Tratamiento 4:** dieta basal, con la adición de la vitamina 25-OH-D<sub>3</sub>, a razón de 5,52g por tonelada, sin tener en cuenta los aportes de calcio y fósforo (On Top) (Tabla 1).

Las aves tuvieron acceso al alimento y al agua en todo momento y aunque la cantidad suministrada fue controlada, las aves no presentaron restricciones ni ayunos alimenticios.

Tabla 1: Aporte de nutrientes en el alimento de inicio en cada uno de los tratamientos entre la semana 4 a la 6 (levante) y semana 7 a la 16 (desarrollo).

Nutriente	Levante				Desarrollo			
	Control	1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> on top	1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> matrizada	25-OH-D <sub>3</sub> on top	Control	1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> on top	1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> matrizada	25-OH-D <sub>3</sub> on top
Energía Metabolizable, Kcal/kg	2960	2960	2960	2960	2800	2800	2800	2800
Proteína Bruta %	19,56	19,56	19,60	19,56	16,69	16,69	16,70	16,69
Grasa %	3,49	3,49	3,50	3,49	4,12	4,12	4,26	4,12
Fibra Bruta %	2,71	2,71	2,77	2,71	3,94	3,94	4,05	3,94
Cenizas %	5,69	5,69	5,49	5,69	6,86	6,86	6,67	6,86
Calcio %	0,95	0,95	0,95	0,95	1,20	1,20	1,20	1,20
Fósforo disponible %	0,44	0,44	0,44	0,44	0,38	0,38	0,38	0,38
Lisina digestible %	1,07	1,07	1,07	1,07	0,78	0,78	0,78	0,78
Vitamina D3 U/kg	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000

**Variables de respuesta evaluadas en el experimento:** Durante el periodo de cría y levante, comprendido entre las semanas 4 a 16 de vida, se realizaron las siguientes mediciones:

**Peso corporal (g):** Cada semana, se realizó el pesaje de diez aves por repetición; el valor encontrado es reportado como promedio. **Porcentaje de uniformidad:** Se calculó semanalmente, a partir del peso de las aves, considerándose como aceptable una desviación estándar del 10% del peso promedio. **Consumo de alimento acumulado (gramos/ave):** Las aves en cada uno de los cuatro tratamientos recibieron diariamente la misma oferta de alimento; al finalizar la semana, el alimento sobrante de cada comedero fue pesado, calculando por diferencia, entre lo ofrecido y lo rechazado, el consumo promedio semanal. **Ganancia de peso:** Se determinó por la diferencia entre el peso inicial y el final de las aves, dividido entre la duración del periodo de evaluación. **Porcentaje de mortalidad:** Se determinó, tanto la mortalidad semanal como acumulada, dividiendo el número de aves muertas de forma natural por el número total de aves alojadas, multiplicando por 100. **Desarrollo de la canilla:** Este parámetro, se determinó en 10 aves por repetición en las semanas 4, 8, 12 y 16 de vida, mediante el uso de un pié de rey de alta precisión, con el cual, se midió la longitud de la tibia en cm. **Contenido mineral en tibia:** Para determinar el nivel de fijación de calcio y de fósforo de las pollitas, en respuesta a los tratamientos utilizados, a las 12 y 16 semanas de vida, dos aves por repetición y un total de 12 aves por

tratamiento, fueron sacrificadas, obteniendo las dos tibias de cada ave, identificándolas con su número de tratamiento, repetición y ubicación de la tibia (izquierda o derecha). En la preparación de la muestra, se siguió la metodología descrita por AOAC (1990), donde se retiró el tejido blando de las tibias, sumergiéndolas en agua en ebullición, por treinta minutos. Para extraer la grasa, se utilizó un reflujo con éter y alcohol, por cuatro horas. Una vez desengrasado el hueso, se secó en estufa, alrededor de cinco horas, a temperatura de 95-100°C, hasta obtener el peso constante. Las muestras ya secas, se mantuvieron en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente; luego, se pesaron en balanza analítica, registrando el peso de la muestra seca, con aproximación de 0,0001g. Para obtener las cenizas, las tibias libres de grasa y de humedad, se depositaron en cápsulas de porcelana, en las que se incineró el material, a una temperatura entre 450-550°C, durante cuatro horas. El residuo de la incineración corresponde a las cenizas; el peso de la ceniza ósea, se registró con aproximación de 0,0001g. La relación entre el peso de la muestra seca y el peso de la ceniza ósea se relacionó a porcentaje, mediante la ecuación:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{\text{Peso de la ceniza ósea} * 100}{\text{peso de la muestra seca}}$$

**Determinación de calcio y fósforo:** Para la determinación de calcio y fósforo, se tomó una porción de las cenizas de cada muestra y se realizó el análisis correspondiente. El con-

tenido de los elementos, se relacionó en porcentaje sobre la muestra de hueso limpio, desengrasado y seco. Una alícuota de 0,1g de ceniza se solubilizó en HCl al 50% y, posteriormente, al 10%, en calentador, a una temperatura de 200°C. Las soluciones resultantes, se diluyeron con agua deionizada para reducir la acidez. Finalmente, estas se transfirieron mediante filtración a un matraz de 50mL, llevando a volumen con agua deionizada, almacenándolas, luego, en frascos de polipropileno.

La determinación complejométrica de calcio, se basó en las normas ISO 9963-1 de 1995 y EPA 130.2 y 310.1. La determinación, se realizó por titulación automática con el titulador Metrohm, modelo Titrand 904. El contenido de fósforo, se determinó al diluir una alícuota de los frascos almacenados, en agua deionizada, cloruro de lantano al 5%, molibdato de  $\text{NH}_4$  y ANSA, para luego ser leídas usando un espectrómetro visible -UV modelo Cintra 5 (AOAC, 1995).

**Evaluación económica:** El costo de alimentación por ave, para cada uno de los tratamientos, se determinó evaluando los costos de alimento por ave levantada, de acuerdo al siguiente cálculo:

Costo de alimentación por ave = Consumo de alimento por ave (kg) X costo de kg de alimento (\$).

**Diseño experimental y análisis estadístico:** Para los análisis de parámetros productivos del experimento, se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones por tratamiento, cuya descripción corresponde a:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$$

Donde:

$\mu$  = promedio general

$\alpha$  = tratamiento

$\epsilon$  = error experimental

Para las concentraciones de fósforo y cenizas en tibia, se aplicó un diseño de medidas repetidas en el tiempo (parcelas divididas), donde los factores evaluados fueron los tratamientos y el tiempo, considerando, dentro del modelo, como parcelas, los tratamientos y, como sub parcelas, el tiempo, cuya descripción corresponde a:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j(\alpha) + \zeta_k + (\alpha\zeta)_{ik} + \epsilon_{l(ijk)}$$

Donde:

$\mu$  = promedio general

$\alpha$  = tratamiento

$\beta$  = repetición

$\zeta$  = tiempo

$\alpha\zeta$  = interacción

$\epsilon$  = error experimental

Durante el periodo experimental de cría y de levante (de 4 a 16 semanas de edad), cada repetición constó de 40 pollas, alojadas en un solo corral, lo que constituyó la unidad experimental. Para la determinación del estatus mineral en tibias, la unidad experimental estuvo constituida por la tibia izquierda y derecha de dos aves por repetición.

Los datos, se sometieron a un análisis de varianza, utilizando el programa SAS versión 9.0 (2004). Las diferencias entre medias fueron comparadas con el test de rangos múltiples de Tukey (Steel & Torrie, 1980), a un alfa de 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Peso de las aves:** No se encontró diferencia estadística ( $P > 0.05$ ) para el peso promedio de las aves ni en su ganancia de peso acumulada (Tabla 2), para los diferentes tratamientos, durante las trece semanas de evaluación. Al comparar el peso ideal que se recomienda para la línea Lohmann Brown (1283 – 1387g), con el peso obtenido a lo largo de esta evaluación, se observa que en los diferentes tratamientos, se logró un peso superior al recomendado.

A diferencia de lo encontrado en este estudio, al comparar la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  con la vitamina  $\text{D}_3$  en pollitos de 0 a 16 días de vida, Edwards (2002) observó efecto significativo sobre el peso de las aves, concluyendo que la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  es mucho más potente que la vitamina  $\text{D}_3$ . A los 16 días, el consumo y la conversión alimenticia también mostraron diferencias estadísticas. Similares resultados fueron reportados por Driver *et al.* (2005), quienes usaron las mismas concentraciones de  $1\alpha\text{OH-D}_3$  ( $5\mu\text{g/kg}$ ), con Natuphos®, en la dieta de pollitos de engorde, durante la fase de iniciación y de engorde e indicaron que la adición de fitasa más  $1\alpha\text{OH-D}_3$ , se comportó bien durante la fase de cría o levante, pero con mejor respuesta en ganancia de peso y conversión alimenticia, cuando esta combinación fue usada durante las fases de iniciación y engorde; sin embargo, la ganancia de peso, el consumo y la conversión alimenticia, no fue significativa para pollitos que fueron alimentados con fitasa y  $1\alpha\text{OH-D}_3$  en dietas deficientes en calcio y fósforo. Otras investigaciones han demostrado que la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  aumenta la ganancia de peso y la conversión alimenticia, además de la retención de fósforo y mejora la concentración de cenizas óseas, en pollitos alimentados con dietas deficientes de fósforo (Biehl *et al.* 1995; Edwards *et al.* 2002).

Evaluaciones realizadas en pollo de engorde han concluido que la adición de la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  en la dieta basal tiene efectos negativos sobre la ganancia de peso, lo que indica que la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  no pudo mejorar el crecimiento de los pollos de engorde cuando la dieta tenía contenidos de fósforo no fítico mayores a 2,9g/kg y cuando la concentración de vitamina  $\text{D}_3$  era abundante (Edwards, 2002; Han *et al.* 2009).

Tabla 2. Efecto de la inclusión de la vitamina  $\text{D}_3$ ,  $1\alpha\text{OH-D}_3$  y de  $25\text{-OH-D}_3$  sobre el consumo, el peso, la conversión y la mortalidad acumulada a la semana 16.

	Control	$1\alpha\text{OH-D}_3$ on top	$1\alpha\text{OH-D}_3$ matrizada	$25\text{-OH-D}_3$ on top
Consumo acumulado, g	5735 <sup>a</sup>	5735 <sup>a</sup>	5735 <sup>a</sup>	5735 <sup>a</sup>
Peso acumulado, g	1501 <sup>a</sup>	1481 <sup>a</sup>	1502 <sup>a</sup>	1488 <sup>a</sup>
Conversión acumulada	4,57 <sup>a</sup>	4,65 <sup>a</sup>	4,59 <sup>a</sup>	4,64 <sup>a</sup>
Mortalidad acumulada %	3,33 <sup>a</sup>	4,58 <sup>a</sup>	3,33 <sup>a</sup>	2,99 <sup>a</sup>

Valores con letras distintas, presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ )

En estudios realizados por Biehl *et al.* (1998), se encontraron efectos significativos en la ganancia de peso de pollitos alimentados con dietas deficientes en fósforo y niveles adecuados en vitamina  $\text{D}_3$ , donde las aves respondieron positivamente a los aumentos en la suplementación de la  $1\alpha\text{OHD}_3$ , en concentraciones mayores a  $7,5\mu\text{g/kg}$ .

**Consumo de alimento y conversión alimenticia:** Dado que en los cuatro tratamientos se ofertó la misma cantidad de alimento y no se registraron rechazos, no hubo diferencias en consumo de nutrientes y de alimento entre tratamientos. Por su parte, la conversión alimenticia acumulada (Tabla 2), no presentó diferencia estadística entre tratamientos, lo que concuerda con los datos anteriores de peso y consumo, con lo que hubo un crecimiento, desarrollo y rendimiento similar entre los tratamientos, durante el periodo experimental.

En los últimos años, se ha generado suficiente información, en la cual, se refleja una mejora significativa en los parámetros de ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia de las aves, con la inclusión en la dieta de la  $1\alpha\text{OH-D}_3$ , en pollitos tipo Broiler, en su fase inicial o finalización (Edwards *et al.* 2002; Han *et al.* 2009; 2012; 2013), pero no en gallinas ponedoras, ya sea en su etapa de levante o producción. De hecho, se han encontrado respuestas positivas en aves recibiendo  $1\alpha\text{OH-D}_3$  (Boris *et al.* 1977; González & Barahona, 2014).

**Longitud de la canilla:** Una de las formas de medir el óptimo desarrollo de los huesos es a través de la longitud de la canilla del ave, medición que se realizó en las semanas 4, 8, 12 y 16 de vida, sin encontrarse diferencia estadística entre tratamientos (Tabla 3,  $P > 0,05$ ).

**Mineralización ósea:** En la semana 12, el contenido de cenizas en tibia mostró diferencia ( $P < 0,05$ ; Tabla 4) entre los tratamientos T1 y T3, presentándose mayor concentración de cenizas, a favor del grupo control (vitamina  $\text{D}_3$ ), comparada con la  $1\alpha\text{OH-D}_3$  matrizada.

Las diferencias entre tratamientos observadas en la semana 12, para la deposición de cenizas, calcio y fósforo, no se percibieron en la semana 16 (Tabla 4). Esta observación, sumada a la de la longitud de la canilla, confirman que el desarrollo e integración ósea con la inclusión de la vitamina  $1\alpha\text{OH-D}_3$  en la dieta, fue igual al del tratamiento control y al resultante de la inclusión de vitamina  $25\text{-OH-D}_3$ , sugiriéndose que estas moléculas promovieron, de manera similar, la absorción de calcio y de fósforo en intestino o su deposición final en hueso.

Es probable que con concentraciones mayores de  $1\alpha\text{OH-D}_3$ , se pudiera observar mayor mineralización ósea, ya que en gallinas alimentadas con dietas a base de maíz y soya, deficientes en fósforo (0,1%), los incrementos graduados de

Tabla 3. Efecto de la inclusión de la vitamina  $1\alpha\text{OH-D}_3$  y de  $25\text{-OH-D}_3$  sobre la longitud de la canilla, en cm.

Semana de medición	Control	$1\alpha\text{OH-D}_3$ on top	$1\alpha\text{OH-D}_3$ matrizada	$25\text{-OH-D}_3$ on top
4	5,59 <sup>a</sup>	5,56 <sup>a</sup>	5,60 <sup>a</sup>	5,58 <sup>a</sup>
8	8,00 <sup>a</sup>	7,91 <sup>a</sup>	8,00 <sup>a</sup>	7,98 <sup>a</sup>
12	9,54 <sup>a</sup>	9,40 <sup>a</sup>	9,53 <sup>a</sup>	9,55 <sup>a</sup>
16	10,13 <sup>a</sup>	9,97 <sup>a</sup>	10,05 <sup>a</sup>	10,09 <sup>a</sup>

Valores con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Tabla 4. Efecto de la inclusión de la vitamina  $1\alpha$  OH-D<sub>3</sub> y de 25-OH-D<sub>3</sub> sobre la concentración, en porcentaje, de minerales en tibia a la semana 12 y 16 de vida.

Semana	Control		1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> On top		1 $\alpha$ OH-D <sub>3</sub> matrizada		25-OH-D <sub>3</sub> On top	
	12	16	12	16	12	16	12	16
Cenizas	37,87 a	38,25	37,26 ab	39,15	36,59 b	38,03	37,17 ab	38,71
Calcio	20,00	22,18	19,80	21,92	19,95	21,16	19,79	21,33
Fósforo	16,81	17,30	16,87	17,21	16,81	17,21	17,12	17,02

Valores con letras distintas presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

$1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> (5 a 40 $\mu$ g/kg de alimento), conllevan a un aumento, marcado en las cenizas en tibia y en el crecimiento (Biehl *et al.* 1995; Snow *et al.* 2004); sin embargo, en este experimento, se siguieron las recomendaciones de los fabricantes de las moléculas, para las dietas de gallinas ponedoras.

Abdulahim *et al.* (1979) reportaron que la  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> posee marcada eficiencia en prevenir la discondroplasia tibial, cuando es administrada a concentraciones de 10 $\mu$ g/kg, en dietas a base de maíz y de soya (Edwards *et al.* 1994; Rennie & Whitehead, 1996). Por su parte, a concentraciones de 70 $\mu$ g/kg (Ledwaba & Roberson, 2003), concentraciones mucho mayores a las usadas en este trabajo, hubo ausencia total de discondroplasia; sin embargo, en pollo de engorde, Han *et al.* (2009) reportaron que la  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> y la fitasa en la dieta puede aumentar, significativamente, la calidad de huesos en pollo de 21 días de edad, al igual que el peso de las cenizas, el contenido de calcio y fósforo en tibias y la resistencia a la fractura de las tibias, con la suplementación de  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> ( $p < 0,001$ ), comparadas con dietas normales con D<sub>3</sub>; estos datos concuerdan con lo reportado por varios autores (Biehl *et al.* 1995; Edwards *et al.* 2002; Edwards, 2002; Snow *et al.* 2004).

Se ha reportado que la resistencia de la tibia a fracturas y el contenido de calcio y fósforo mejoran con la adición de  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> en la dieta. Edelstein *et al.* (1978) informaron que la  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> se metaboliza a  $1,25$ -(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> en el tejido intestinal y hueso y que esta forma hormonal facilita la absorción y la retención de calcio y de fósforo, mejorando la resistencia de la tibia a fracturas.

La concentración de calcio y de fósforo en el plasma tiende a incrementarse con la adición de la  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> (Edwards, 2002), en pollos; por ejemplo, Biehl *et al.* (1995) reportaron que con dosis graduales, entre 0 y 20 $\mu$ g/kg de  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub>, se produjo una respuesta lineal ( $p < 0,001$ ) en peso de tibia, concentración de ceniza en la tibia y total del peso de la ceniza de la tibia; sin embargo, estos trabajos fueron en pollos y, en ellos, se usaron concentraciones de  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> mayores a las usadas en este experimento, lo cual, dificulta las comparaciones, además del hecho, que no existe suficiente información de trabajos realizados con gallinas.

**Mortalidad:** El porcentaje de mortalidad acumulado hasta la semana 16 no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p > 0,005$ ); esto indica, que la inclusión de la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> y la 25-OH-D<sub>3</sub>, en este trabajo, no influyó sobre la muerte natural de las aves durante el periodo de levante (Tabla 3).

**Evaluación económica:** Al evaluar el costo de alimentación por ave de cada tratamiento, determinada al cuantificar los costos de alimento por ave levantada (Tabla 5), se encontró un menor costo de alimentación (\$16,5/ave), cuando se incluyó la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub>, matrizada en el alimento, comparándolo con el grupo control con la adición de fitasa. Al comparar la inclusión de las dos biomoléculas "On Top", igualmente, se observó una diferencia de \$10,5/ave, a favor de la  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub>. Por su parte, la inclusión de la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> matrizada, representó una reducción de 1,0%, en el costo de alimentación de cada ave, comparada con el uso 25-OH-D<sub>3</sub> "On Top".

Se concluye, que el uso de la biomolécula  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> matrizada o "OnTop" dentro de la formulación, no mostró diferencias en los parámetros zootécnicos evaluados, con respecto al tratamiento control o 25-OH-D<sub>3</sub>. Así, la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> permitió una mineralización ósea similar a la encontrada en el tratamiento control y con el tratamiento 25-OH-D<sub>3</sub>; no obstante, con la inclusión de la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> matrizada en las dietas de inicio y levante de ponedoras, se redujo el costo de alimentación por ave, sin afectar los parámetros productivos.

Se recomienda, para futuras investigaciones de la vitamina  $1\alpha$ OH-D<sub>3</sub> en dietas de gallinas, utilizar niveles de inclusión mayores a los usados en este experimento, para cualquiera de sus etapas fisiológicas, al igual que evaluar dietas con diferentes concentraciones de calcio, para esta molécula. Como existe muy poca información con gallinas ponedoras o gallinas reproductoras, se recomienda trabajar más con éstas especies, ya que la fatiga de jaula, la fragilidad de la cáscara al final del ciclo productivo y la contaminación ambiental por excesos de fósforo en la dieta de las aves, representan pérdidas millonarias a la industria avícola nacional y mundial.

Tabla 5. Efecto de la inclusión de la vitamina  $1\alpha$  OH-D<sub>3</sub> y 25 OH-D<sub>3</sub> sobre el costo del alimento para el periodo cría y levante.

	Control	$1\alpha$ OH-D <sub>3</sub> On Top	$1\alpha$ OH-D <sub>3</sub> Matrizada	25 OH-D <sub>3</sub> On Top
Costo alimento inicio/ave	\$1.045,97	\$ 1.049,91	\$ 1.043,82	\$ 1.050,17
Costo alimento levante/ave	\$ 3.786,94	\$ 3.803,98	\$ 3.772,62	\$ 3.814,21
Costo total del alimento/ave	\$ 4.832,91	\$ 4.853,89	\$ 4.816,44	\$ 4.864,38

**Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABDULRAHIM, S.M.; PATEL, M.B.; MCGINNIS, J. 1979. Effects of vitamin D<sub>3</sub> and D<sub>3</sub> metabolites on production. *Poult. Sci.* 58(4):858-863.
- AGUDELO GONZÁLEZ, G. 2008. Fundamentos de nutrición animal aplicada. Ciencia y Tecnología. Ed. Universidad de Antioquia, p.96-98.
- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H.L. 2003. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82:1140-1148.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC-. 1990. Vitamin D<sub>3</sub> in poultry feed supplements. Method 932.16. *Pa Official Methods of Analysis*. 15th ed. AOAC, Arlington, VA. p.1094-10.95.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC-. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> edition. Official Method 965.17, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- ATENCIO, A.; EDWARDS, H.M.; PESTI, G.M.; WARET, G.O. 2006. The vitamin D<sub>3</sub> requirement of broiler breeders. *Poult. Sci.* 85:674-692.
- BIEHL, R.R.; BAKER, D.H.; DELUCA, F. 1998. Activity of various hydroxylated vitamin D<sub>3</sub> analogs for improving phosphorus utilization in chicks receiving diets adequate in vitamin D<sub>3</sub>. *Brit. Poult. Sci. Ltd.* 39:408-412.
- BIEHL, R.R.; BAKER, D.H.; DELUCA, F. 1995.  $1\alpha$ -Hydroxylatedcholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. *J. Nutr.* 125:2407-2416.
- BORIS, A.; HURLEY, J.F.; TRMAL, T. 1977. Relative activities of some metabolites and analogs of cholecalciferol in stimulation of tibia ash weight in chicks otherwise deprived of vitamin D. *J. Nutr.* 107:194-198.
- CHUNG, T.K.; RUTHERFURD, S.M.; THOMAS, D.V.; MOUGHAN, P.J. 2013. Effect of two microbial phytases on mineral availability and retention and bone mineral density in low-phosphorus diets for broilers. *Brit. Poult. Sci.* 54(3):362-373.
- DRIVER, J.P.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I.; EDWARDS, H.M. 2005. Phytase and  $1\alpha$ -hydroxycholecalciferol supplementation of broiler chickens using the Starting and Growing/Finishing Phases. *Poult. Sci.* 84:1616-1628.
- EDELSTEIN, S.; NOFF, D.; FREEMAN, D.; SHEVES, M.; MAZUR, Y. 1978. Synthesis of  $1\alpha$ -Hydroxycholecalciferol and its metabolism in the chick. *Biochem. J.* 176:111-117.
- EDWARDS, H.M. 2002. Studies on the efficacy of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. *Poult. Sci.* 81:1026-1031.
- EDWARDS, H.M.; ELLIOT, M.A.; SOONCHARERNYING, S.; BRITTON, W.M. 1994. Quantitative requirement for cholecalciferol in the absence of ultraviolet light. *Poult. Sci.* 73:288-294.
- EDWARDS, H.M.; SHIRLEY, R.B.; ESCOE, W.B.; PESTI G.M. 2002. Quantitative evaluation of  $1\alpha$ -Hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute for broilers. *Poult. Sci.* 81:664-669.
- GONCALVES, J.A.; BERTECHINI, A.G.; FASSANI, E.J.; BORGES, P.; MACHADO, E.; MENEGHETTI, C. 2010. Efeito da vitamina D<sub>3</sub> e 25-hidroxi-colecalciferol

- rol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfología intestinal de frangos de corte. R. Bras. Zootec. 39(12):2656-2663.
17. GONZÁLEZ, C.A.; BARAHONA, R. 2014. Mecanismos de acción de la vitamina D3, 1 $\alpha$ -hidroxicolecalciferol (1 $\alpha$ -OH-D3,) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D3) en gallinas de postura comercial. Rev. CES Med. Vet. Zoot. 9(1):114-127.
18. GUERRA, A.F.Q.G.; MURAKAMI, A.E.; SANTOS, T.C.; EYNG, C.; PICOLI, K.P.; OSPINA-ROJAS, I.C. 2014. Utilização da vitamina D3 e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. Pesqui. Vet. Bras. 34(5):477-484.
19. HAN, J.C.; QIU, H.X.; WANG, J.Q.; YAO, J.H.; ZHANG, C.M.; YANG, G.L.; CHEN, Y.H.; DONG, X.S. 2013. The effects of dietary cholecalciferol and 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol levels in a calcium-and phosphorus-deficient diet on growth performance and tibia quality of growing broilers. J. Anim. Feed Sci. 22:158-164.
20. HAN, J.C.; WANG, Y.L.; QIU, H.X.; LIANG, F.; ZHANG, J.L.; SHI, C.X.; ZHANG, X.L.; LI, L.; XIE, Q.; WANG, C.L.; YAN, Y.Y.; DONG, X.S.; CHENG, Y.H. 2012. One alpha-hydroxycholecalciferol improves growth performance, tibia quality, and meat color of broilers fed calcium-and phosphorus-deficient diets. Asian-Austr. J. Anim. Sci. 25:267-271.
21. HAN, J.C.; YANG, X.D.; ZHANG, L.M.; LI, W.L.; ZHANG, T.; ZHANG, Z.Y.; YAO, J.H. 2009. Effects of 1 alpha-hydroxycholecalciferol and phytase on growth performance, tibia parameter and meat quality of 1- to 21-d-old broilers. Asian-Austr. J. Anim. Sci. 22(6):857-864.
22. KANIS, J.A. 1982. Vitamin D metabolism and its clinical application. Ed. British Ed. Soc. Bone and Joint Surgery. 64(5):542.
23. KHAN, S.H.; SHAHID, R.; MIAN, A.; SARDAR, R.; ANJUM, M.A. 2010. Effect of the level of chole-calciferol supplementation of broiler diets on the performance and tibial dyscondroplasia. J. An. Physiol. An. Nutr. 94:584-593.
24. LEDWABA, M.F.; ROBERSON, K.D. 2003. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in ross cockerels depends on dietary calcium level. Poult. Sci. 82:1769-1777.
25. MATTILA, P.; VALAJA, V.; ROSSOW, L.; VENÄLÄINEN, E.; TUPASELA, T. 2004. Effect of vitamin D2- and D3-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. Poult. Sci. 83:433-440.
26. NATIONAL RESEARCH COUNCIL –NRC-. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9<sup>th</sup> Rev Ed. Washington: National Academy Press. 155p.
27. RENNIE, J.S.; WHITEHEAD, C.C. 1996. Effectiveness of dietary 25- and 1-hydroxycholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. Brit. Poult. Sci. 37:413-421.
28. SAS. 2004. SAS Institute Inc. SAS/STAT 9.0. User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC.
29. SNOW, J.L.; BAKER, D.H.; PARSONS, C.M. 2004. Phytase, citric acid, and 1 $\alpha$ -Hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilization in chicks fed a corn-soybean meal diet. Poult. Sci. 83:1187-1192.
30. STEEL, G.D.; TORRIE, J.H. 1980. Principles and procedures of Statistics: A Biometral Approach. 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill, New York, NY. 633p.

Recibido: Mayo 28 de 2014

Aceptado: Febrero 26 de 2015

#### Cómo citar:

González, C.A.; Chica, J.E.; Barahona, R. 2015. Efecto de la vitamina 1 $\alpha$ -OH-D<sub>3</sub>, y 25-OH-D<sub>3</sub> sobre los índices de desempeño y la mineralización ósea en pollitas comerciales. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(1): 155-162.