

# NIVEL ÓPTIMO BIOLÓGICO Y ECONÓMICO DE CALCIO EN GALLINAS LEGHORN BLANCAS DE SEGUNDO CICLO DE POSTURA

## BIOLOGICAL AND ECONOMIC OPTIMUM LEVEL OF CALCIUM IN WHITE LEGHORN OF SECOND CYCLE LAYING HENS

Josafat Hernández-Sánchez<sup>1</sup>, Manuel Cuca-García<sup>1</sup>, Arturo Pró-Martínez<sup>1</sup>,  
Mariano González-Alcorta<sup>2</sup> y Carlos Becerril-Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ganadería. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (jmcuca@colpos.mx). <sup>2</sup>Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México.

### RESUMEN

El calcio es importante para una óptima producción y formación del cascarón del huevo porque un nivel inadecuado en la dieta de gallinas ponedoras puede afectar la calidad del cascarón y la producción de huevo. Se realizó un experimento con 250 gallinas Leghorn Hy-Line® W-98 para evaluar cinco niveles de Ca (2.74, 3.48, 4.06, 4.56 y 5.19%) en tres periodos (79 a 87, 88 a 96 y 97 a 105 semanas de edad) sobre la producción de huevo y la calidad del cascarón. No hubo interacción entre el nivel de Ca y periodo, pero los efectos principales mostraron que el nivel de Ca afectó ( $p \leq 0.05$ ) el consumo de alimento y Ca, peso del huevo y grosor del cascarón, pero no la masa de huevo, conversión alimentaria y gravedad específica del huevo. Hubo diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre periodos en todas las variables productivas y de calidad del cascarón, al avanzar la edad de las gallinas, excepto para peso del huevo. Los niveles óptimos biológicos de Ca para máxima masa de huevo y grosor del cascarón fueron 3.17 y 4.02 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, y el nivel óptimo económico fue 3.17 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

**Palabras clave:** Edad de la gallina, gravedad específica, grosor del cascarón.

### INTRODUCCIÓN

Un problema importante en gallinas de postura, conforme avanza la edad de producción, es la reducción de la calidad del cascarón (Elaroussi *et al.*, 1994) que depende, entre otros factores, del nivel de Ca en la dieta. Cascarones rotos o con fisuras causan pérdidas económicas a los productores de huevo (Lavelin *et al.*, 2000). El NRC (1994) sugiere un consumo de 3.25 g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para gallinas de primer ciclo, el cual parece ser insuficiente para mantener la calidad del cascarón en gallinas de más edad. Bar *et al.* (2002) sugieren, para una óptima producción y calidad del cascarón, un consumo de 3.6 Ca g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> en gallinas de 76 semanas de edad y de segundo ciclo de

### ABSTRACT

Calcium is important for optimum performance and eggshell formation, since inadequate levels in the diet of laying hens may affect shell quality and egg production. An experiment with 250 Leghorn Hy-Line® W-98 was conducted to evaluate the effect of five calcium levels (2.74, 3.48, 4.06 and 5.19% and three laying periods (79 to 87, 88 to 96 and 97 to 105 weeks of age) on egg production and shell quality. There was no interaction between calcium level and laying period, but the main effects showed that: the calcium level of the diet affected ( $p \leq 0.05$ ) daily feed and calcium intake, egg weight, eggshell thickness but not egg mass, feed conversion and egg specific gravity. There were differences among periods ( $p \leq 0.05$ ) in all productive performance and eggshell quality as the age of the hens advanced, except in egg weight. The biological optimum levels for maximum egg mass and shell thickness were 3.17 and 4.02 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, and the economic optimum level was 3.17 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

**Key words:** Age of laying hens, specific gravity, shell thickness.

### INTRODUCTION

An important problem in laying hens, as the production age advances, is the reduction in eggshell quality (Elaroussi *et al.*, 1994), which depends among other factors, on the level of Ca in the diet. Eggshells that are broken or cracked cause economic losses to the egg producers (Lavelin *et al.*, 2000). The NRC (1994) suggests an intake of 3.25 g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> for first cycle laying hens, which seems to be insufficient to maintain eggshell quality in older hens. Bar *et al.* (2002) suggests for an optimum production and quality of the eggshell, an intake of 3.6 Ca g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> in hens of 76 weeks of age and of the second laying cycle. In this study an evaluation was made of five levels of calcium in diets for second cycle hens and its effects on production and eggshell quality at different moments of the laying period.

postura. En este estudio se evaluaron cinco niveles de calcio en dietas para gallinas de segundo ciclo y su efecto en la producción y calidad del cascarón en distintos momentos del periodo de postura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 250 gallinas Leghorn Hy-Line® W-98 de 79 semanas de edad, a las que se indujo a pelechar antes de iniciar el experimento. Terminado el periodo de pelecha, se distribuyeron al azar cinco tratamientos con cinco repeticiones de diez gallinas cada una. El experimento duró 27 semanas divididas en tres periodos de nueve semanas cada uno para detectar cambios en el comportamiento productivo a través del tiempo; el agua y el alimento se suministraron *ad libitum*. Las aves se vacunaron contra Newcastle e influenza aviar en la semana 90 de edad. Se proporcionó luz artificial para completar 16 h de luz por día.

Las dietas fueron isoproteínicas e isoenergéticas (Cuadro 1) y cubrieron los requerimientos sugeridos por el NRC (1994) para gallinas en postura, excepto Ca. Los análisis del carbonato de calcio indicaron un contenido de 37.0% Ca, y para el fosfato dicálcico 20.3% Ca y 15.85% P. Los niveles de Ca analizados en las dietas fueron: 2.74, 3.48, 4.06, 4.56 y 5.19%; los resultados se discuten con estos valores.

## MATERIALS AND METHODS

In this study, 250 Leghorn Hy-Line® W-98 hens of 79 weeks of age were utilized, which were force molted prior to the experiment. After the molting period, five treatments were randomly distributed with five repetitions of ten hens each. The experiment lasted 27 weeks divided into three periods of nine weeks each to detect changes in the productive performance over time; water and food were administered *ad libitum*. The hens were vaccinated against Newcastle and poultry influenza at the 90<sup>th</sup> week of age. Artificial light was provided to complete 16 h of light per day.

The diets were isoproteinic and isoenergetic (Table 1) and satisfied the requirements suggested by the NRC (1994) for laying hens, except Ca. The analysis of calcium carbonate indicated a content of 37.0% Ca, and for dicalcium phosphate, 20.3% Ca and 15.85% P. The levels of Ca analyzed in the diets were: 2.74, 3.48, 4.06, 4.56, and 5.19%; the results are discussed with these values.

The variables were: feed intake (g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, DFC), Ca intake (g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, DCC), egg mass (g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, EM), feed conversion (g feed: g egg, per period, week, treatment and replicate, FC); egg weight (g, EW); specific gravity (SG, according to the method proposed by Hamilton, 1982); and eggshell thickness (mm, ST). In addition, the biological optimum level (BOL) was calculated utilizing

**Cuadro 1. Composición y análisis de las dietas experimentales.**  
**Table 1. Composition and analysis of the experimental diets.**

| Ingredientes (%)                    | Nivel de Ca en la dieta (%) |       |       |       |       |
|-------------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                     | 2.75                        | 3.25  | 3.75  | 4.25  | 4.75  |
| Sorgo                               | 59.22                       | 59.22 | 59.22 | 59.22 | 59.22 |
| Pasta de soya                       | 23.71                       | 23.71 | 23.71 | 23.71 | 23.71 |
| Aceite de soya                      | 3.11                        | 3.11  | 3.11  | 3.11  | 3.11  |
| Carbonato de calcio                 | 6.41                        | 7.76  | 9.11  | 10.47 | 11.83 |
| Arena                               | 5.42                        | 4.07  | 2.72  | 1.36  | 0.00  |
| Fosfato dicálcico                   | 1.44                        | 1.44  | 1.44  | 1.44  | 1.44  |
| Sal 0.25                            | 0.25                        | 0.25  | 0.25  | 0.25  |       |
| Cloruro de colina                   | 0.05                        | 0.05  | 0.05  | 0.05  | 0.05  |
| Premezcla de vitaminas <sup>†</sup> | 0.10                        | 0.10  | 0.10  | 0.10  | 0.10  |
| Premezcla de minerales              | 0.10                        | 0.10  | 0.10  | 0.10  | 0.10  |
| DL-Metionina                        | 0.09                        | 0.09  | 0.09  | 0.09  | 0.09  |
| Pigmento                            | 0.10                        | 0.10  | 0.10  | 0.10  | 0.10  |
| Total                               | 100.0                       | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Aporte nutrimental calculado        |                             |       |       |       |       |
| EM, Mcal kg <sup>-1</sup>           | 2.75                        | 2.75  | 2.75  | 2.75  | 2.75  |
| Proteína cruda, %                   | 16.00                       | 16.00 | 16.00 | 16.00 | 16.00 |
| Lisina, %                           | 0.77                        | 0.77  | 0.77  | 0.77  | 0.77  |
| Metionina, %                        | 0.32                        | 0.32  | 0.32  | 0.32  | 0.32  |
| Treonina, %                         | 0.56                        | 0.56  | 0.56  | 0.56  | 0.56  |
| Metionina+cistina, %                | 0.58                        | 0.58  | 0.58  | 0.58  | 0.58  |
| Fósforo disponible, %               | 0.40                        | 0.40  | 0.40  | 0.40  | 0.40  |
| Calcio total calculado, %           | 2.75                        | 3.25  | 3.75  | 4.25  | 4.75  |
| Calcio total analizado, %           | 2.74                        | 3.48  | 4.06  | 4.56  | 5.19  |

<sup>†</sup> La premezcla de vitaminas aportó, por kg de alimento: vit. A, 12 000 UI; colecalciferol, 2500 UI; vit. E, 40 UI; riboflavina, 10 mg; ácido pantoténico, 15 mg; niacina, 70 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 0.02 mg; menadiona (K<sub>3</sub>), 30 mg; ácido fólico, 2 mg; tiamina, 2.5 mg; piridoxina (B<sub>6</sub>), 5 mg; biotina, 0.25 mg; colina, 500 mg; etoxiquina, 190 mg.

<sup>‡</sup> La premezcla de minerales aportó, por kg de alimento: Mn, 80 mg; Zn, 50 mg; Cu, 10 mg; Fe, 80mg; I, 2 mg; Se, 0.3 mg; Mn quelatado, 20 mg; Zn quelatado, 30 mg.

Las variables fueron: consumo de alimento (g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, CDA), consumo de Ca (g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, CDC), masa de huevo (g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, MH), conversión alimentaria (g alimento: g huevo, por periodo, semana, tratamiento y repetición, CA); peso del huevo (g, PH); gravedad específica (GE, según la metodología propuesta por Hamilton, 1982); y grosor del cascarón (mm, GC). Además se calculó el nivel óptimo biológico (NOB) utilizando la masa de huevo acumulada (MHA) y consumo de alimento acumulado (CAA), y el nivel óptimo económico (NOE) de Ca.

Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 3x5, donde los factores fueron tres periodos (de nueve semanas cada uno) y cinco niveles de Ca.

Para cada variable se realizó un análisis de varianza usando PROC GLM, y las medias se compararon con la prueba de Tukey (SAS, 1999). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + S_{j(l)} + TS_{j(il)} + R_{j(k)} + e_{ijkl}$$

donde  $Y_{ijkl}$  = variable de respuesta correspondiente al  $i$ -ésimo nivel de calcio de la dieta en el  $j$ -ésimo período de la  $k$ -ésima repetición la  $l$ -ésima semana;  $\mu$  = media general;  $T_i$  = efecto del  $i$ -ésimo nivel de calcio de la dieta ( $i = 1, 2, \dots, 5$ );  $P_j$  = efecto del  $j$ -ésimo periodo ( $j = 1, 2$  y  $3$ );  $TP_{ij}$  = efecto de la interacción entre nivel de calcio de la dieta y periodo;  $S_{j(l)}$  = efecto de la  $l$ -ésima semana dentro del  $j$ -ésimo periodo;  $TS_{j(il)}$  = efecto de la interacción tratamiento por semana dentro del  $j$ -ésimo periodo;  $R_{j(k)}$  = efecto de la  $k$ -ésima repetición dentro de la interacción tratamiento por semana dentro de periodo;  $e_{ijkl}$  = error experimental.

Se realizaron análisis de regresión (SAS, 1999) para estimar MHA, CAA y GC. Se usaron tres modelos lineales (Steel y Torrie, 1988):

$$\begin{aligned} \text{lineal } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + E_{ijk}, \\ \text{cuadrático } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + \beta_3 X_j^2 + E_{ijk}, \\ \text{cúbico } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + \beta_3 X_j^2 + \beta_4 X_j^3 + E_{ijk}, \end{aligned}$$

donde  $Y_{ijk}$  = variable dependiente;  $\beta_0$  a  $\beta_4$  son coeficientes de regresión;  $X_i$  = edad de la gallina;  $X_j$  = nivel de Ca en la dieta. El criterio para elegir el modelo de regresión fue el que presentara menor cuadrado medio del error y mayor coeficiente de determinación.

El NOB y NOE se calcularon mediante los siguientes modelos econométricos:

$$\text{Max } vr = f(\text{Ca})$$

y

$$\text{Max } U(\$) = \text{Ingresos} - \text{Egresos}$$

con las restricciones:

$$Ax = b \text{ y } x = 0,$$

the accumulated egg mass (AEM) and accumulated feed consumption (AFC), and the economic optimum level (EOL) of Ca.

A completely randomized experimental design was used with a 3x5 factorial arrangement, where the factors were three periods (of nine weeks each) and five Ca levels.

A variance analysis was made for each variable using PROC GLM, and the means were compared with the Tukey test (SAS, 1999). The statistical model was:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + S_{j(l)} + TS_{j(il)} + R_{j(k)} + e_{ijkl}$$

where  $Y_{ijkl}$  = the response variable corresponding to the  $i$ -th level of calcium in the diet in the  $j$ -th period of the  $k$ -th replicate the  $l$ -th week;  $\mu$  = general mean;  $T_i$  = effect of the  $i$ -th level of calcium of the diet ( $i = 1, 2, \dots, 5$ );  $P_j$  = effect of the  $j$ -th period ( $j = 1, 2$  and  $3$ );  $TP_{ij}$  = effect of the interaction between calcium level of the diet and period;  $S_{j(l)}$  = effect of the  $l$ -th week within the  $j$ -th period;  $TS_{j(il)}$  = effect of the interaction treatment per week within the  $j$ -th period;  $R_{j(k)}$  = effect of the  $k$ -th replicate within the interaction treatment per week within period;  $e_{ijkl}$  = experimental error.

Regression analyses (SAS, 1999) were made to estimate AEM, AFC and ST. Three linear models were used (Steel and Torrie, 1988):

$$\begin{aligned} \text{linear } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + E_{ijk}, \\ \text{quadratic } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + \beta_3 X_j^2 + E_{ijk}, \\ \text{cubic } Y_{ijk} &= \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_j + \beta_3 X_j^2 + \beta_4 X_j^3 + E_{ijk}, \end{aligned}$$

where  $Y_{ijk}$  = dependent variable;  $\beta_0$  a  $\beta_4$  are regression coefficients;  $X_i$  = age of the hen;  $X_j$  = level of Ca in the diet. The criteria for selecting the regression model was that which presented the least mean square of the error and the highest determination coefficient.

The BOL and EOL were calculated with the following econometric models:

$$\text{Max } vr = f(\text{Ca})$$

and

$$\text{Max } U(\$) = \text{Income} - \text{Expenses}$$

with the restrictions:

$$Ax = b \text{ and } x = 0,$$

where  $rv$  = response variable (ST, AEM or AFC);  $f(\text{Ca})$  = regression equation for estimating  $rv$ , as a function of the dietary levels of calcium (Ca);  $A$  = matrix of coefficients that represent the contribution of nutrients of the ingredients of the diet ( $x$ );  $b$  = nutritional requirements; income (\$) = (EM (g) =  $e(\text{Ca})$ ) × (price of egg (\$)); expenses (\$) = (DFC (g) =  $i(\text{Ca})$ ) × (cost of the diet (\$));  $e(\text{Ca})$  = regression equation for predicting the AEM for the entire production cycle, as a function

donde  $vr$  = variable respuesta (GC, MHA o CAA);  $f(Ca)$  = ecuación de regresión para estimar  $vr$ , en función de los niveles dietéticos de calcio ( $Ca$ );  $A$  = matriz de coeficientes que representan el aporte de nutrimentos de los ingredientes de la dieta ( $x$ );  $b$  = requerimientos nutrimentales; ingresos (\$) =  $(MH(g) = h(Ca)) \times (\text{precio del huevo } \$)$ ; egresos (\$) =  $(CDA(g) = i(Ca)) \times (\text{costo de la dieta } \$)$ ;  $h(Ca)$  = ecuación de regresión para predecir la MHA en todo el ciclo de producción, en función del nivel dietético de calcio;  $i(Ca)$  = ecuación de regresión para predecir el CAA en todo el ciclo de producción, en función del nivel dietético de calcio.

El modelo econométrico se ajustó con el programa solver de Microsoft® Excel 2000. Se consideró el precio del huevo y costo de los ingredientes en el Valle de México durante la realización del experimento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontró interacción ( $p > 0.05$ ) entre el nivel de  $Ca$  y el período en las variables estudiadas, por lo que se describen y discuten los efectos de los factores principales, nivel de  $Ca$  y período.

El consumo de alimento ( $g \text{ ave}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) fue diferente ( $p \leq 0.05$ ) debido a los niveles de  $Ca$  en la dieta y disminuyó en el tercer período (Cuadro 2), posiblemente por la menor masa de huevo (Cuadro 3). Las gallinas alimentadas con 2.74 y 3.48% de  $Ca$  tuvieron mayor consumo que las alimentadas con 4.06 y 5.19%. Estos resultados concuerdan con los de Roland *et al.* (1985), Gordon y Roland (1998) y Castillo *et al.* (2004), quienes mencionan que las gallinas pueden exceder su consumo de energía para cubrir sus requerimientos de  $Ca$  para la formación del cascarón. Aunque estos autores

of the dietary level of calcium;  $i(Ca)$  = regression equation for predicting the AFC for the entire production cycle, as a function of the dietary level of calcium.

The econometric model was adjusted with the solver program of Microsoft® Excel 2000. The price of egg was considered along with the cost of the ingredients in the Valley of México during the experiment.

## RESULTS AND DISCUSSION

No interaction was found ( $p > 0.05$ ) between the  $Ca$  level and the period in the variables studied, thus the effects of the principal factors are described and discussed, along with  $Ca$  level and period.

Feed consumption ( $g \text{ hen}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) was different ( $p \leq 0.05$ ) due to the levels of  $Ca$  in the diet and diminished in the third period (Table 2), possibly because of the lower egg mass (Table 3). Hens fed with 2.74 and 3.48% of  $Ca$  had higher consumption than those fed with 4.06 and 5.19%. These results coincide with those of Roland *et al.* (1985), Gordon and Roland (1998) and Castillo *et al.* (2004), who mention that the hens may exceed their energy consumption to satisfy their requirements of  $Ca$  for the formation of the eggshell. Although these authors utilize first cycle hens and lower  $Ca$  levels, their results are similar to those of the present experiment.

The DFC was higher than  $100 g \text{ hen}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , suggested for hens of the line Hy-line® W-98 (Hy-Line International, 2001). The energy content of the diets was  $2750 \text{ kcal ME kg}^{-1} \text{ DM}$ , and that suggested for this line, after molting, is from 2870 to  $2880 \text{ kcal ME kg}^{-1} \text{ DM}$ , thus it

**Cuadro 2. Respuesta al nivel de  $Ca$  y edad en el consumo de alimento y de  $Ca$  de gallinas Leghorn de segundo ciclo.**  
**Table 2. Response to the  $Ca$  level and age in the consumption of feed and  $Ca$  of second cycle Leghorn hens.**

| Periodo                                                    | Niveles de Ca de la dieta |                   |                   |                   |                   | $\bar{X}$         | EE   |
|------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
|                                                            | 2.74%                     | 3.48%             | 4.06%             | 4.56%             | 5.19%             |                   |      |
| Consumo de alimento (g ave <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) |                           |                   |                   |                   |                   |                   |      |
| 1                                                          | 117                       | 119               | 114               | 117               | 114               | 116 <sup>a</sup>  | 0.5  |
| 2                                                          | 118                       | 117               | 111               | 114               | 112               | 114 <sup>a</sup>  | 0.4  |
| 3                                                          | 112                       | 111               | 109               | 110               | 109               | 110 <sup>b</sup>  | 0.5  |
| $\bar{X}$                                                  | 116 <sup>a</sup>          | 116 <sup>a</sup>  | 111 <sup>b</sup>  | 114 <sup>ab</sup> | 112 <sup>b</sup>  |                   |      |
| EE                                                         | 0.6                       | 0.6               | 0.6               | 0.6               | 0.8               |                   |      |
| Consumo de Ca (g ave <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )       |                           |                   |                   |                   |                   |                   |      |
| 1                                                          | 3.21                      | 4.13              | 4.64              | 5.32              | 5.92              | 4.65 <sup>a</sup> | 0.07 |
| 2                                                          | 3.22                      | 4.06              | 4.51              | 5.21              | 5.82              | 4.57 <sup>a</sup> | 0.06 |
| 3                                                          | 3.07                      | 3.87              | 4.42              | 5.06              | 5.65              | 4.41 <sup>b</sup> | 0.06 |
| $\bar{X}$                                                  | 3.17 <sup>c</sup>         | 4.02 <sup>d</sup> | 4.52 <sup>c</sup> | 5.20 <sup>b</sup> | 5.80 <sup>a</sup> |                   |      |
| EE                                                         | 0.02                      | 0.02              | 0.03              | 0.03              | 0.04              |                   |      |

$\bar{X}$  = media de la variable; EE = error estándar; a, b, c: medias con letra distinta en columnas e hileras son diferentes ( $p \leq 0.05$ ); Período 1 = 79 a 87 semanas de edad; Período 2 = 88 a 96 semanas de edad; Período 3 = 97 a 105 semanas de edad.

**Cuadro 3. Respuesta al nivel de Ca y edad en masa de huevo y conversión alimentaria de gallinas Leghorn de segundo ciclo.**  
**Table 3. Response to the Ca level and age in egg mass and feed conversion of second cycle Leghorn hens.**

| Periodo                                              | Niveles de Ca de la dieta |       |       |       |       | $\bar{X}$         | EE   |
|------------------------------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------------------|------|
|                                                      | 2.74%                     | 3.48% | 4.06% | 4.56% | 5.19% |                   |      |
| Masa de huevo (g ave <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) |                           |       |       |       |       |                   |      |
| 1                                                    | 49.8                      | 50.6  | 47.9  | 49.6  | 48.1  | 49.2 <sup>a</sup> | 0.8  |
| 2                                                    | 52.0                      | 49.8  | 49.1  | 51.2  | 51.0  | 50.6 <sup>a</sup> | 0.4  |
| 3                                                    | 46.3                      | 43.4  | 43.1  | 47.4  | 47.9  | 45.6 <sup>b</sup> | 0.4  |
| $\bar{X}$                                            | 49.4                      | 47.9  | 46.7  | 49.4  | 49.0  |                   |      |
| EE                                                   | 0.7                       | 0.8   | 0.8   | 0.8   | 0.9   |                   |      |
| Conversión alimentaria (g:g)                         |                           |       |       |       |       |                   |      |
| 1                                                    | 2.6                       | 2.5   | 2.7   | 2.8   | 2.8   | 2.7 <sup>a</sup>  | 0.10 |
| 2                                                    | 2.3                       | 2.4   | 2.3   | 2.3   | 2.2   | 2.3 <sup>b</sup>  | 0.02 |
| 3                                                    | 2.4                       | 2.6   | 2.6   | 2.4   | 2.3   | 2.5 <sup>b</sup>  | 0.02 |
| $\bar{X}$                                            | 2.5                       | 2.5   | 2.5   | 2.5   | 2.5   |                   |      |
| EE                                                   | 0.06                      | 0.06  | 0.08  | 0.09  | 0.09  |                   |      |

$\bar{X}$  = media de la variable; EE = error estándar; a, b, c: medias con letra distinta en una columna son diferentes ( $p \leq 0.05$ ); Periodo 1 = 79 a 87 semanas de edad; Periodo 2 = 88 a 96 semanas de edad; Periodo 3 = 97 a 105 semanas de edad.

utilizaron gallinas de primer ciclo y niveles de Ca más bajos, sus resultados coinciden con los del presente experimento.

El CDA fue mayor a 100 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, sugerido para gallinas de la línea Hy-line® W-98 (Hy-Line International, 2001). El contenido de energía de las dietas fue 2750 kcal EM kg<sup>-1</sup> MS, y el sugerido para esta estirpe, después de la muda, es 2870 a 2880 kcal EM kg<sup>-1</sup> MS, por lo que posiblemente las gallinas consumieron más alimento para satisfacer sus necesidades de energía.

El cálculo de las dietas experimentales se hizo con base en un consumo de 100 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>; sin embargo, en todos los periodos el CDA fue superior a 110 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Cuadro 2), lo que provocó que las gallinas de cada tratamiento consumieran más Ca del esperado. Ésto indica que el CDC (g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) dependió de la concentración de Ca y del consumo de alimento, como consecuencia del menor nivel de energía en las dietas.

En este experimento se observó que las gallinas en postura toleran 5.19 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> de Ca, y según Keshavarz y Nakajima (1993), las gallinas toleran 5.85 g ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Además, las gallinas pueden consumir más Ca del que requieren para cubrir sus necesidades, siempre que estén en producción (Taher *et al.*, 1984).

El CDC (Cuadro 2) disminuyó ( $p \leq 0.05$ ) en el tercer periodo, debido a un menor CDA y reducción de las necesidades de Ca y energía al reducirse la masa de huevo.

Los resultados de MH no fueron diferentes ( $p > 0.05$ ) por efecto de los niveles de Ca en la dieta (Cuadro 3). Estos resultados coinciden con los de Bar *et al.* (2002), de que un incremento de Ca en la dieta (de 4 a 5%) no cambió el consumo de alimento y producción de huevo

is possible that the hens consumed more feed to satisfy their energy requirements.

The calculation of the experimental diets was made based on a consumption of 100 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>; however, in all of the periods the DFC was over 110 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Table 2), which caused the hens of each treatment to consume more Ca than was expected. This indicates that the DFC (g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) depends on the concentration of Ca and on feed consumption, as a consequence of the lower energy level in the diets.

In this experiment it was observed that the laying hens tolerate up to 5.19 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> of Ca, and according to Keshavarz and Nakajima (1993), the hens tolerate 5.85 g hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Furthermore, the hens can consume more Ca than is required to fulfill their needs, provided they are in production (Taher *et al.*, 1984).

The DCC (Table 2) was reduced ( $p \leq 0.05$ ) in the third period, due to a lower DFC and reduction in the requirements of Ca and energy as the egg mass was reduced.

The results of EM were not different ( $p > 0.05$ ) from the effect of the levels of Ca in the diet (Table 3). These results coincide with those of Bar *et al.* (2002), that an increase of Ca in the diet (from 4 to 5%) did not change the feed intake and egg production in molted hens. The EM of the hens that consumed 3.17 g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> was not different ( $p > 0.05$ ) from the other treatments, which indicates that this DFC is sufficient to maintain an adequate egg production in the second laying cycle.

The EM diminished ( $p \leq 0.05$ ) in the third period due to the age of the hens. Elaroussi *et al.* (1994) mention that, in addition to the Ca level in the diet, the amount of eggs produced depends on the reserves of Ca in the

en gallinas pelechadas. La MH de las gallinas que consumieron  $3.17 \text{ g Ca ave}^{-1} \text{ d}^{-1}$  no fue diferente ( $p>0.05$ ) a los demás tratamientos, lo que indica que este CDC es suficiente para mantener una adecuada producción de huevo en el segundo ciclo de postura.

La MH disminuyó ( $p\leq 0.05$ ) en el tercer periodo debido a la edad de las gallinas. Elaroussi *et al.* (1994) mencionan que, además del nivel de Ca de la dieta, la cantidad de huevos producidos depende de las reservas de Ca del esqueleto, las cuales disminuyen con la edad de la gallina como consecuencia de una menor tasa de absorción de Ca en el intestino (AL-Batshan *et al.*, 1994).

La CA (Cuadro 3) no fue diferente entre tratamientos ( $p>0.05$ ); hubo diferencias ( $p\leq 0.05$ ) en CDA, pero no se reflejaron en la CA (Cuadro 3). La CA en esta investigación (2.5) fue mayor al valor calculado de los resultados de producción de huevo y CDA mencionados por la guía de manejo (Hy-Line International, 2001; Bar *et al.*, 2002), de 2.3 y 2.0, para gallinas de segundo ciclo de postura, lo cual se debe posiblemente al menor contenido de energía de la dieta experimental. La CA fue mayor ( $p\leq 0.05$ ) en el primer periodo que en los dos últimos, debido al mayor CDA en este periodo (Cuadros 2 y 3), aunque la variabilidad observada fue cinco veces superior a la de los otros dos periodos.

El PH (g) fue mayor ( $p\leq 0.05$ ) con 3.48 que con 4.06% de Ca en el alimento, pero no hubo diferencias con los otros tratamientos (Cuadro 4). Ésto posiblemente puede estar relacionado con las diferencias en el CDA (4%) ya comentadas (Roland *et al.*, 1985; Roland *et al.*, 1996). No se encontraron diferencias en PH durante los tres periodos evaluados (Cuadro 4).

El nivel de Ca en la dieta no cambió la GE (Cuadro 4). Keshavarz y Nakajima (1993) tampoco encontraron diferencias en GE al incrementar el Ca en la dieta (de 3.5 a 5.5%), en gallinas más jóvenes (menores a 64 semanas) y próximas a terminar su primer ciclo de producción. A pesar de la diferencia en edad, los resultados coinciden con los del presente estudio. En la literatura revisada no se encontró información relacionada con gallinas de segundo ciclo de postura. La GE disminuyó ( $p\leq 0.05$ ) en el tercer periodo respecto a los dos primeros, por efecto de la edad.

El GC fue mayor ( $p\leq 0.05$ ) en las gallinas del tratamiento con 5.19% de Ca respecto a las que recibieron 2.74% (Cuadro 4), lo cual concuerda con Bar *et al.* (2002) quienes observaron que gallinas de segundo ciclo mejoraron la calidad del cascarón al consumir más Ca. Sin embargo, no hubo diferencias en GC entre 2.74% de Ca y los siguientes tres niveles. Keshavarz y Nakajima (1993) concluyeron que para mejorar la calidad del cascarón, es más importante aumentar el tiempo de permanencia de las partículas de Ca en el sistema digestivo del ave, que incrementarlo en la dieta.

skeleton, which are reduced with the age of the hen as a consequence of a lower absorption rate of Ca in the intestine (AL-Batshan *et al.*, 1994).

The FC (Table 3) was not different among treatments ( $p>0.05$ ); there were differences ( $p\leq 0.05$ ) in DFC, but they were not reflected in the FC (Table 3). The FC in this study (2.5) was higher than the value calculated from the results of egg production and DFC mentioned in the management guide (Hy-Line International, 2001; Bar *et al.*, 2002), of 2.3 and 2.0, for second cycle hens, which may be due to the lower energy content of the experimental diet. The FC was greater ( $p\leq 0.05$ ) in the first period than in the last two, due to the higher DFC in this period (Tables 2 and 3), although the variability observed was five times greater than that of the other two periods.

The EW (g) was higher ( $p\leq 0.05$ ) with 3.48 than with 4.06% Ca in the feed, but there were no differences with the other treatments (Table 4). This may be related to the differences in the DFC (4%) which were mentioned previously (Roland *et al.*, 1985) and Roland *et al.*, 1996). No differences were found in EW during the three periods evaluated (Table 4).

The Ca level in the diet did not change SG (Table 4). Neither did Keshavarz and Nakajima (1993) find differences in SG when increasing Ca in the diet (from 3.5 to 5.5%), in younger hens (under 63 weeks) and close to the end of their first production cycle. Despite the age difference, the results coincide with those of the present study. No information was found in the reviewed literature related to second cycle laying hens. The SG was reduced ( $p\leq 0.05$ ) in the third period as compared to the first and second, due to the age.

The ST was larger ( $p\leq 0.05$ ) in the hens of the treatment with 5.19% of Ca with respect to those that received 2.74% (Table 4), which coincides with Bar *et al.* (2002), who observed that second cycle hens improved the eggshell quality by consuming more Ca. However, there were no differences in ST between 2.74% of Ca and the following three levels. Keshavarz and Nakajima (1993) concluded that to improve eggshell quality, it is more important to increase the time of permanence of the particles of Ca in the digestive system of the hen, than to increase it in the diet.

The ST presented a linear reduction between periods ( $p\leq 0.05$ ) (Table 4). AL-Batshan *et al.* (1994) indicated that the absorption rate of Ca from the intestine declines with age, which would imply a lower amount of Ca available to deposit in the shell. The increase in the incidence of soft or broken eggs is associated with the age of the hens, and may be due to the reduction of  $1-25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ , which participates in the regulation of homeostasis of calcium in poultry (Elaroussi *et al.*, 1994).

**Cuadro 4. Respuesta al nivel de Ca y edad en peso del huevo, gravedad específica del huevo y grosor del cascarón de gallinas Leghorn de segundo ciclo.****Table 4. Response to the Ca level and age in egg weight, specific egg gravity and eggshell thickness in second cycle Leghorn hens.**

| Periodo                                               | Niveles de Ca de la dieta |                     |                     |                     |                    | $\bar{X}$          | EE     |
|-------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------|
|                                                       | 2.74%                     | 3.48%               | 4.06%               | 4.56%               | 5.19%              |                    |        |
| Peso del huevo (g ave <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) |                           |                     |                     |                     |                    |                    |        |
| 1                                                     | 70.3                      | 70.8                | 69.4                | 69.8                | 70.0               | 70.1               | 0.2    |
| 2                                                     | 70.5                      | 70.7                | 69.2                | 69.2                | 70.4               | 70.0               | 0.2    |
| 3                                                     | 70.9                      | 71.6                | 70.3                | 70.6                | 70.4               | 70.7               | 0.1    |
| $\bar{X}$                                             | 70.6 <sup>ab</sup>        | 71.0 <sup>a</sup>   | 69.6 <sup>b</sup>   | 69.8 <sup>ab</sup>  | 70.3 <sup>ab</sup> |                    |        |
| EE                                                    | 0.3                       | 0.2                 | 0.3                 | 0.3                 | 0.2                |                    |        |
| Gravedad específica                                   |                           |                     |                     |                     |                    |                    |        |
| 1                                                     | 1.078                     | 1.079               | 1.079               | 1.080               | 1.079              | 1.079 <sup>a</sup> | 0.0002 |
| 2                                                     | 1.078                     | 1.078               | 1.078               | 1.080               | 1.079              | 1.079 <sup>a</sup> | 0.0002 |
| 3                                                     | 1.076                     | 1.076               | 1.076               | 1.076               | 1.077              | 1.076 <sup>b</sup> | 0.0002 |
| $\bar{X}$                                             | 1.077                     | 1.077               | 1.077               | 1.078               | 1.078              |                    |        |
| EE                                                    | 0.0003                    | 0.0003              | 0.0003              | 0.0003              | 0.0003             |                    |        |
| Grosor del cascarón (mm)                              |                           |                     |                     |                     |                    |                    |        |
| 1                                                     | 0.360                     | 0.368               | 0.366               | 0.370               | 0.375              | 0.368 <sup>a</sup> | 0.002  |
| 2                                                     | 0.347                     | 0.360               | 0.352               | 0.355               | 0.356              | 0.354 <sup>b</sup> | 0.002  |
| 3                                                     | 0.332                     | 0.341               | 0.343               | 0.334               | 0.347              | 0.339 <sup>c</sup> | 0.003  |
| $\bar{X}$                                             | 0.346 <sup>b</sup>        | 0.357 <sup>ab</sup> | 0.354 <sup>ab</sup> | 0.353 <sup>ab</sup> | 0.359 <sup>a</sup> |                    |        |
| EE                                                    | 0.004                     | 0.004               | 0.004               | 0.004               | 0.004              |                    |        |

$\bar{X}$  = media de la variable; EE = error estándar; a, b, c: medias con letra distinta entre columnas e hileras son diferentes ( $p \leq 0.05$ ); Periodo 1 = 79 a 87 semanas de edad; Periodo 2 = 88 a 96 semanas de edad; Periodo 3 = 97 a 105 semanas de edad.

El GC presentó una disminución lineal entre periodos ( $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 4). AL-Batshan *et al.* (1994) indicaron que la tasa de absorción de Ca desde el intestino declina con la edad, lo que implicaría menor cantidad de Ca disponible para depositar en el cascarón. El aumento en la incidencia de huevos blandos o rotos se asocia con la edad de las gallinas y puede deberse a la disminución de 1-25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, que participa en la regulación de la homeostasis del calcio en aves (Elaroussi *et al.*, 1994).

Mediante regresión lineal se estimó los NOB de Ca para optimizar las variables de interés y se buscó establecer la relación de los niveles de Ca y la edad de las gallinas. Los modelos de regresión (Figura 1) que mejor predijeron el GC (A), la masa de huevo acumulada (B), y el consumo de alimento acumulado (C), los cuales presentaron una respuesta cúbica ( $p \leq 0.05$ ), cuadrática ( $p \leq 0.05$ ) y lineal ( $p \leq 0.01$ ).

El NOB de Ca en la dieta para grosor del cascarón fue 3.53% (Figura 1A); sin embargo, las gallinas que recibieron la dieta con 3.48%, la más cercana a dicho valor, mostraron un consumo de 4.02 g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Cuadro 2).

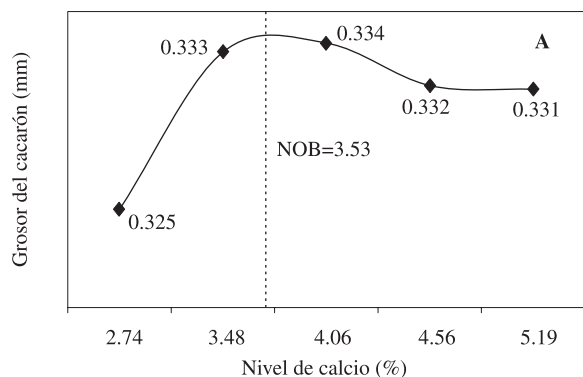
Para máxima MHA y CAA, el NOB fue 2.75% de Ca en la dieta; sin embargo, las gallinas que recibieron la dieta con 2.74% consumieron 3.17 g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Cuadro 2). Dicho consumo fue ligeramente menor al

Through linear regression, the BOL of Ca was estimated to optimize the variables of interest, and an attempt was made to establish the relationship between the levels of Ca and the age of the hens. The regression models (Figure 1) that most effectively predicted the ST (A), accumulated egg mass (B), and the accumulated feed consumption (C), which presented a cubic ( $p \leq 0.05$ ), quadratic ( $p \leq 0.05$ ) and linear ( $p \leq 0.05$ ) response.

The BOL of Ca in the diet for eggshell thickness was 3.53% (Figure 1A); however, the hens that received the diet with 3.48%, the closest to this value, showed a consumption of 4.02 g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Table 2).

For maximum AEM and AFC, the BOL was 2.75% of Ca in the diet; however, the hens that received the diet with 2.74% consumed 3.17 g Ca hen<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> (Table 2). This consumption was slightly less than the requirement suggested by the NRC (1994) for first cycle laying hens (3.17 vs 3.25 g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), which indicates that this amount of Ca is sufficient to maintain egg production in second cycle laying hens.

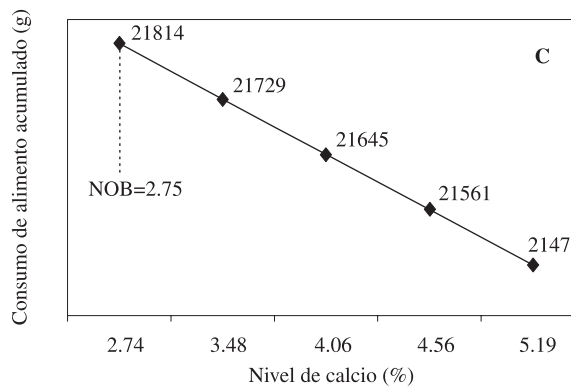
The BOL are valid for the specific conditions of this study: genetic line, feed intake, environmental temperature, production cycle. This should be taken into account in the selection of one of the biological optimum levels of Ca, according to the objectives of the production system.



$$GC = -0.026 - 0.001 \text{ edad} + 0.032 \text{ Ca} - 0.081 \text{ Ca}^2 + 0.007 \text{ Ca}^3$$

$$\text{CME} = 0.002$$

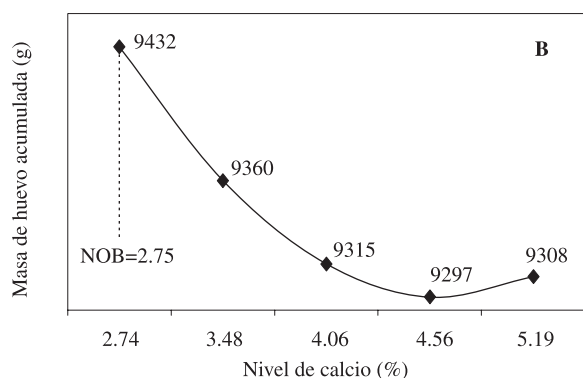
$$R^2 = 0.58$$



$$CAA = 42.36 + 113.44 \text{ edad} - 168.34 \text{ Ca}$$

$$\text{CME} = 138302$$

$$R^2 = 0.99$$



$$MHA = 510.14 + 50.04 \text{ edad} - 472.87 \text{ Ca} + 54.75 \text{ Ca}^2$$

$$\text{CME} = 158349$$

$$R^2 = 0.98$$

**Figura 1. A: cambios del grosor del cascarón (GC), B: masa de huevo acumulada (MHA); C: consumo de alimento acumulado (CAA), al variar la cantidad de Ca en la dieta de la semana 79 a 105. Edad = días del experimento acumulados en 27 semanas; Ca = calcio; CME = cuadrado medio del error; NOB = nivel óptimo biológico de calcio en la dieta.**

**Figure 1. A: changes in eggshell thickness (ST), B: accumulated egg mass (AEM) and C: accumulated feed intake (AFC), when varying the amount of Ca in the diet from week 79 to 105. Age = days of the experiment accumulated in 27 weeks; Ca = calcium; MSE = mean square error; BOL = biological optimum level of calcium in the diet.**

requerimiento sugerido por el NRC (1994) para gallinas de primer ciclo de postura ( $3.17$  vs  $3.25$  g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), lo que indica que esta cantidad de Ca es suficiente para mantener la producción de huevo en gallinas de segundo ciclo de postura.

Los NOB son válidos para las condiciones específicas de esta investigación: línea genética, consumo de alimento, temperatura ambiental, ciclo de producción. Ésto debe tomarse en cuenta en la elección de uno de los niveles óptimos biológicos de Ca, de acuerdo con los objetivos del sistema de producción.

Respecto al NOE, con 2.75% de Ca en la dieta y un consumo de  $3.17$  g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Cuadro 2) se obtuvo la mayor utilidad por ave.

## CONCLUSIONES

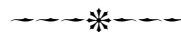
El nivel de Ca en la dieta afecta el CDA, CDC, PH y GC. El NOB y NOE es  $3.17$  g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para optimizar masa de huevo y utilidades por ave. Para maximizar el grosor del cascarón las gallinas deben consumir  $4.02$  g Ca ave<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

With respect to the EOL, with 2.75% of Ca in the diet and a consumption of  $3.17$  g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Table 2) the greatest utility was obtained per hen.

## CONCLUSIONS

The level of Ca in the diet affects the DFC, DCC, EW and ST. The BOL and EOL is  $3.17$  g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> to optimize egg mass and utilities per hen. To maximize the eggshell thickness, the hens should consume  $4.02$  g Ca hen<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

—End of the English version—



## AGRADECIMIENTOS

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

## LITERATURA CITADA

AL-Batshan, A. H., S. E. Scheideler, B. L. Black, J. D. Garlich, and K. E. Anderson. 1994. Duodenal calcium uptake, femur ash, and

- eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poult. Sci.* 73:1590-1596.
- Bar, A., V. Razaphkovsky, and E. Vax. 2002. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements in aged laying hens. *Br. Poult. Sci.* 43: 261-269.
- Castillo, C., M. Cuca, A. Pro, M. González, and E. Morales. 2004. Biological and economic optimum level of calcium in White Leghorn laying hens. *Poult. Sci.* 83: 868-872.
- Elaroussi, A. M., L. R. Forte, S. L. Eber, and H. V. Biellier. 1994. Calcium homeostasis in the laying hen I. Age and dietary calcium effects. *Poult. Sci.* 73: 1581-1589.
- Gordon, W. R. and D. A. Roland, Sr. 1998. Influence of supplemental phytase on calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Poult. Sci.* 77: 290-294.
- Hamilton, R. M. G., 1982. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poult. Sci.* 45: 805-809.
- Hy-Line Internacional. 2001. Hy-Line W-98, Guía de Manejo Comercial 2001-2003. West Des Moines, I. A. USA. 22 p.
- Keshavarz, K., and S. Nakajima, 1993. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. *Poult. Sci.* 72: 144-153.
- Lavelin, I., N. Meiri, and M. Pines. 2000. New insight in eggshell formation. *Poult. Sci.* 79: 1014-1017.
- Microsoft Office. 2000. Microsoft Corporation, Redmond, WA. USA.
- NRC (National Research Council). 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> Revised Edition. National Academy Press. Washington, D. C. USA. 155 p.
- Roland, Sr., D. A., M. Farmer, and D. Marple. 1985. Calcium and its relationship to excess feed consumption, body weight, egg size, fat deposition, shell quality, and fatty liver hemorrhagic syndrome. *Poult. Sci.* 64: 2341-2350.
- Roland, Sr., D. A., M. M. Bryant, and H. W. Rabon. 1996. Influence of calcium and environmental temperature on performance of first-cycle (phase 1) commercial Leghorns. *Poult. Sci.* 75:62-68.
- SAS Institute. 1999. SAS User's Guide: Statistics Version 8.00 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. 956 p.
- Steel, R. G. D., y J. H. Torrie, 1988. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2<sup>a</sup> Ed. McGraw-Hill. México, D. F. 622 p.
- Taher, I. A., E. W. Gleaves, and M. Beck. 1984. Special calcium appetite in laying hens. *Poult. Sci.* 63: 2261- 2267.