



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

EVALUACIÓN DEL INCREMENTO DE CO₂ EN LA ETAPA TEMPRANA DE INCUBACIÓN SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN AVES DOMÉSTICAS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

SONIA LÓPEZ CÓRDOVA

TUTOR

M.V.Z M.C. MARCO ANTONIO JUÁREZ ESTRADA

COMITÉ TUTORAL

DR. NESTOR LEDESMA MARTÍNEZ

DR. ENRIQUE PEDERNEIRA ASTEGIANO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A todas las personas que contribuyeron a la realización de este trabajo.

A mi familia por su apoyo incondicional y sincero a lo largo de mi vida, pero sobre todo por el amor que me dan.

A mi madre por tu cariño, por la educación que me diste que me forjo a ser la persona que soy, por ser un ejemplo de búsqueda y superación para darle una mejor vida a su familia y porque siempre estas al pendiente de mi. ¡Gracias por todo tu amor!

A mi Tío, por apoyarme durante toda mi vida.

A mis Hermanos:

Javier: Por todo tu apoyo a pesar de encontrarte lejos de casa.

Roberto: Por ser un ejemplo de superación y perseverancia que a base de trabajo puede alcanzar todas sus metas.

Al MVZ. Marco Antonio Juárez Estrada, por mostrarme el camino hacia el conocimiento y ser uno de mis mejores amigos.

A todos los académicos y profesores que participaron en mi educación desde las primeras etapas de mi vida, porque me impulsaron a superarme, ser perseverante y me enseñaron a ser una mejor persona.

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque fue su voluntad que obtuviera este triunfo en mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi segunda casa durante las etapas de bachillerato, licenciatura y posgrado y porque me siento orgullosa de haberme formado y ser parte de ella.

Al programa de becas del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por brindarme las facilidades necesarias que me permitieron continuar con mis estudios de posgrado.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (D.G.A.P.A- U.N.A.M) por el apoyo financiero otorgado para la realización del presente estudio por medio del proyecto **PAPIIT IN 220909-3 “Evaluación del incremento de CO₂ en la etapa temprana de incubación sobre el desarrollo embrionario en aves domésticas”** durante el periodo 2009-2011.

A mi tutor principal el MVZ, MC Marco Antonio Juárez Estrada, por apoyarme desde el principio, haber puesto este proyecto y toda tu confianza en mí, mostrar pasión y profesionalismo en todo lo que realizas, por preocuparte por todos y cada uno de los aspectos de este proyecto, enseñarme a tener amor y pasión por la investigación, preocuparte por mi formación profesional, motivarme a publicar todos los resultados que hemos obtenido, pero sobre todo por todos tus consejos y enseñanzas que me han servido para llegar a ser una mejor profesionista y una gran persona. Gran parte de lo que soy te lo debo a ti. Desde el fondo de mi corazón. ¡Muchas gracias!

A los miembros de mi Comité Tutorial. Al Dr. Néstor Ledesma Martínez y al Dr. Enrique Pedernera Astegiano, por todo el apoyo que me brindaron durante mis estudios. Así como por todas las observaciones que realizaron a este trabajo de investigación.

A los miembros de mi jurado, Al Dr. José A. Quintana, Dra. Gabriela Gómez, Dr. Juan Carlos Del Río y al Dr. Mariano González Alcorta. Por sus pertinentes observaciones que han permitido que este trabajo de investigación sea digno de pertenecer al acervo de la Universidad.

A la MVZ MC Araceli Lima, por su colaboración en este proyecto mediante las facilidades otorgadas para realizar los hemogramas en las instalaciones de su laboratorio, por su gran disposición para ayudarme en todo momento, resolver mis dudas y por brindarme su amistad.

A la MVZ Ana Delia Rodríguez, por toda la ayuda recibida para la estandarización de las pruebas de ELISA para detectar T3, T4 y cortisol. Por toda la paciencia que me tuvo durante esta etapa, mostrarme el lado divertido de trabajar en el laboratorio, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A los Académicos que contribuyeron a mi formación y superación profesional durante mis estudios de posgrado. Cecilia Rosario, Adriana Ducoing, Araceli Lima, Marie Therese Casaubón, y José Luis Pablos H. Porque de ellos obtuve conocimientos invaluableles.

Al Dr. José Antonio Quintana. Por brindarme de forma desinteresada todas sus experiencias para mejorar este trabajo.

A mis Mejores amigos en esta etapa de mi vida.

Selene Blas Benítez. Por tu amistad incondicional desde el primer día, por compartir buenos y malos momentos, escucharme, darme tus consejos y por estar ahí siempre que te necesité.

Stivalis Cárdenas García. Con mucho cariño desde México hasta Athens Georgia, Estados Unidos. Por tu apoyo incondicional en todos mis experimentos, por abrirme las puertas de tu casa siempre que lo necesité, por los buenos momentos compartidos, por escucharme, ser mi confidente y desvelarte por ayudarme cada vez que lo necesité.

Ernesto Godínez García. Con cariño por ser un excelente amigo, por estar siempre pendiente de las cosas que me hacían falta, por cuidarme, escucharme, por las risas en el laboratorio, ayudarme y desvelarte junto a mí en este trabajo de investigación.

Diego Rodríguez Saldaña. Con afecto desde México hasta Cuenca Ecuador, por todos esos momentos llenos de entusiasmo al momento de trabajar en el Departamento de aves, por la confianza que me diste, por estar ahí siempre que requerí ayuda, abrirme las puertas de tu casa, ser un verdadero amigo, ser un ejemplo de un excelente estudiante y profesionalista con deseos de superación y además orgulloso de su país.

Espero que este trabajo te pueda servir en un futuro.

A mis amigos del Departamento de aves con quienes compartí muchas horas de trabajo, risas, fiestas, reuniones y anécdotas dignas de ser recordadas. Lety Cruz, Xochitl Zambrano, Raquel Mijares, Saeth Reyes, José Manuel Carranza, Ulises Constantino, Carlos Rodríguez, Alberto Morales, Álvaro Macas, Israel Monroy, Andrés Paredes, Karina Gaviña, Diana Rodríguez y Giovanni Steffani.

A mis amigos que en todos estos años están pendientes de mí. Lucía Favila, Gabriela Boneta, Lourdes González, Lilia Zarzoza, Alejandro Hernández, Adrian Chávez, Jesús Reyes, Sinaí Centeno y Arturo Godínez.

Al MVZ Alejandro Martínez De la Paz. Por permitirme formar parte de su equipo de trabajo durante mis estudios y darme todas las facilidades necesarias durante mis prácticas de hematología.

A mis compañeros y amigos del trabajo.

Julieta Ramírez, por las facilidades otorgadas para concluir con los trámites de obtención del grado.

Adolfo Ortiz y Emilio Venegas, por brindarme nuevos conocimientos y apoyarme en todo momento.

Edwin Nieves, Ricardo Aguirre y Rolando Cruz por ser trabajadores, entusiastas y por todos los buenos momentos llenos de amenidad en el laboratorio.

A Javier Núñez Pérez por estar conmigo en este momento de mi vida.

A todas aquellas personas que en mayor o menor medida, con sus buenos o malos deseos, me impulsaron a seguir adelante y nunca mirar hacia atrás.

“Vivir no es sólo existir,
sino existir y crear,
saber gozar y sufrir
y no dormir sin soñar.
Descansar, es empezar a morir.

Gregorio Marañón.

“La ciencia no solo es compatible con la espiritualidad,
es una fuente profunda de espiritualidad.”

Carl Sagan.

“Quien contempla a un verdadero amigo, es como si contemplara a
otro ejemplar de sí mismo.”

Marco Tulio Cicerón.

“Vale más saber alguna cosa de todo,
que saberlo todo de una sola cosa”

Blaise Pascal.

“La naturaleza nos ha dado las semillas del conocimiento, no el
conocimiento mismo.”

Séneca.

RESUMEN

EVALUACIÓN DEL INCREMENTO DE CO₂ EN LA ETAPA TEMPRANA DE INCUBACIÓN SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN AVES DOMÉSTICAS.

Se realizaron seis experimentos de incubación que contemplaron como principal variable un tratamiento de ventilación limitada mediante el sellado de las máquinas incubadoras, la cual permitió un incremento gradual en las concentraciones de CO₂ durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario (DE), el cual fue comparado con un tratamiento estándar de incubación, el que consistió en no sellar las máquinas y que actuó como grupo testigo, esto con el fin de evaluar su efecto sobre el desarrollo embrionario y los principales parámetros de incubación. Se emplearon huevos incubables provenientes de distintas edades y estirpes de aves reproductoras (*Gallus domesticus*). Una vez transcurridos los primeros 10 días (DE) se les retiraron los sellos a las incubadoras del tratamiento de ventilación limitada y continuaron bajo condiciones de incubación estándar análogas al grupo testigo hasta la eclosión. La concentración de CO₂ se incrementó por encima de las concentraciones recomendadas por diversos autores, la más elevada fue la del experimento IV, donde se registraron 21,690 ppm de CO₂. Se obtuvo una mayor tasa de natalidad en los grupos de ventilación limitada en 3 de 6 experimentos; cuando en el tratamiento de ventilación limitada las concentraciones de CO₂ fueron menores a 15,000 ppm, el inicio y la duración de la ventana de nacimientos fueron menores. En cuatro de seis experimentos se observaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en la longitud del pollito al nacimiento, el tratamiento de ventilación limitada en aves Ross 308 de 40 semanas mostró la mayor diferencia observada, la calidad del pollito al nacimiento fue mucho mejor en los grupos de ventilación limitada. Las concentraciones de cortisol plasmático en pollitos recién nacidos provenientes del tratamiento de ventilación limitada se incrementaron de forma estadística significativa ($P < 0.05$). Se apreció un incremento en el hematocrito, en el conteo de glóbulos rojos y de los monocitos en pollitos recién nacidos provenientes del tratamiento de ventilación limitada. El uso de la ventilación limitada durante los primeros 10 días de incubación favorece que el embrión se adapte rápidamente a condiciones ambientales adversas, lo cual promueve los cambios celulares anteriormente mencionados al mismo tiempo que se reduce la ventana de nacimientos, los embriones pierden peso de manera apropiada, nacen más rápido, muestran mayor calidad y tienen una mayor longitud al nacimiento. El uso de la ventilación limitada como práctica rutinaria en la incubación unietápica estandarizada por abajo de las 15,000 ppm, mejora el desarrollo embrionario y los parámetros de incubación, lo cual hace proporcionalmente con relación a la edad y estirpe de las aves.

Palabras clave: Mortalidad embrionaria, Incubación multi-etápica, incubabilidad, cortisol, Oxígeno.

ABSTRACT

EFFECT OF EARLY RISE IN CO₂ DURING THE FIRST HALF OF INCUBATION OF CHICKEN EGGS ON EMBRYONIC GROWTH.

Six different studies were done using chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO₂ concentrations of ambient air during the first 10 days of incubation; this rise in CO₂ was reached by partial or total occlusion of the incubator damper. This high CO₂ concentration treatment was compared with control incubation treatment under normal incubation conditions of ambient air CO₂; it was done in order to evaluate the embryonic growth and hatching parameters. Breeder chicken eggs from different breeds and ages were used. After first ten days of incubation, the treatment incubator cabinets with high CO₂ concentrations in the ambient air were opened and incubation from ED10 onwards was done under normal conditions of CO₂ ambient air like control group. CO₂ concentration recorded here was higher than CO₂ levels that have been described by several authors; the IV experiment had the highest CO₂ concentration, it was 21,660 ppm. Three from six experiments with higher CO₂ concentration of ambient air into the incubator had greater hatch from total eggs. The hatch window was early and thin narrows in CO₂ concentration under 15,000 ppm groups. Four groups of fertile eggs incubated with high CO₂ ambient air from a total of six experimental groups had more Chick-day-old with larger length ($P<0.05$); group of Ross 308 with 40 weeks of age showed the greatest differences. Grade score quality of chick-day-old was higher in all groups from fertile eggs incubated with high CO₂ concentration. The cortisol in plasma was higher ($P<0.05$) into the chicks from restricted ventilation treatment than the control group. Moreover, hematocrite, red blood cells and monocytes had same rising pattern. Incubation with higher external CO₂ concentration during the first ten days gives to the chicken embryo a plasticity into the physiology answer to the adverse environmental conditions from ED10 onwards the finishing of hatching process; these changes involve the blood cell parameters already reviewed before at same time contribute to have a thin narrows window hatch. Egg loss mass is better under this high CO₂ ambient air incubation condition, the chicks hatching faster and they are longer and with the best quality grade score than control group. Incubation with higher external CO₂ ambient air during the first half of incubation process as a common practice in a single stage incubation ever its done under 15,000 ppm contributes to improve embryonic development and the hatching parameters, it had a direct relationship with the breeder chicken age and kind of breed.

Key words: Embryo mortality, Multi stage incubation, hatchability, cortisol, Oxygen.

CONTENIDO

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
CONTENIDO	IX
INDICE DE CUADROS	XI
ABREVIATURAS	XV
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	2
1.1 Importancia del huevo fértil y su impacto económico.	2
1.2 Importancia de las condiciones ambientales durante la incubación.	4
1.3 Principios de la ventilación limitada en la incubación.	8
1.4 Efecto de la ventilación limitada sobre el desarrollo embrionario.	9
1.5 Ventilación limitada y producción hormonal.	10
1.6 Calidad del pollito como herramienta para evaluar condiciones de incubación.	11
1.7 Interacción de las condiciones ambientales sobre el desempeño productivo	13
2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	14
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVOS	16
4.1 Objetivo general.	16
4.2 Objetivos específicos.	16
5. MATERIAL Y MÉTODOS	18
5.1 Diseño experimental.	18
5.1.1 Huevo incubable.	20
5.1.2 Máquinas incubadoras y condiciones de incubación.	21
5.1.3 Parámetros de incubación a evaluar	23
5.1.4 Ventana de nacimientos.	23

5.1.5 Evaluación de calidad en pollitos recién nacidos	24
5.1.6 Desarrollo embrionario y evaluación de mortalidad embrionaria por etapas.	26
5.1.7 Hemograma de embriones y pollitos de un día de edad.	26
5.1.8 Pesos absolutos de los pollitos recién nacidos.	27
5.2 Pesos relativos de órganos embrionarios.	27
5.2.1 Evaluación de concentraciones hormonales en sangre.	28
5.3 Análisis estadístico.	29
5.3.1 Observaciones de interés.	30
6. RESULTADOS	31
6.1 Experimento I. (Bovans White, 33 semanas)	31
6.2 Experimento II. (Bovans White de 36 semanas).	33
6.3 Experimento III. (Bovans White de 40 semanas).	34
6.4 Experimento IV. (Ross 308 de 52 semanas).	36
6.5 Experimento V. (Bovans White de 36 semanas).	38
6.6 Experimento VI. (Ross 308, 37 semanas).	40
7. DISCUSIÓN	43
8. CONCLUSIONES	59
9. LITERATURA CITADA	60
10. ANEXO	73
10.1 Cuadros de resultados.	73

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras Bovans white de 33 semanas de edad incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	73
Cuadro 2. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de Bovans White incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	74
Cuadro 3. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves Bovans white provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	74
Cuadro 4. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	75
Cuadro 5. Concentración de O ₂ (%) y CO ₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Bovans white incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	76
Cuadro 6. Pesos en gramos de órganos de pollitos recién nacidos bajo tratamiento de incremento progresivo en las concentraciones de CO ₂ al interior de las máquinas incubadoras.	77
Cuadro 7. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras Bovans white de 36 semanas de edad incubados bajo un esquema de aumento progresivo de las concentraciones de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	77
Cuadro 8. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de Bovans White incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	78
Cuadro 9. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves Bovans white provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	78
Cuadro 10. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	79
Cuadro 11. Concentración de O ₂ (%) y CO ₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Bovans white incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	80

Cuadro 12. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras Bovans white de 40 semanas de edad incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	81
Cuadro 13. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de Bovans White incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	82
Cuadro 14. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves Bovans white provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	82
Cuadro 15. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	83
Cuadro 16. Concentración de O ₂ (%) y CO ₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Bovans white de 40 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	84
Cuadro 17. Concentraciones plasmáticas de las hormonas T3, T4 y cortisol (ng/μl) en embriones de 18 días de desarrollo embrionario y en pollitos recién nacidos registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Bovans white incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	85
Cuadro 18. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras Ross 308 de 52 semanas de edad incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	86
Cuadro 19. Pesos promedio del huevo al inicio de la incubación y porcentajes promedio de pérdida de peso del huevo durante la incubación.	87
Cuadro 20. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves Bovans white provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	87
Cuadro 21. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	88

Cuadro 22. Concentración de O ₂ (%) y CO ₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Ross 308 incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	89
Cuadro 23. Valores hematológicos obtenidos en embriones con 18 días de desarrollo embrionario y pollitos recién nacidos bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	90
Cuadro 24. Pesos de órganos de embriones de 18 días de incubación y de pollitos recién nacidos aplicando dos diferentes tipos de tratamientos.	91
Cuadro 25. Parámetros de incubación en huevos provenientes de la estirpe Bovans White (<i>Gallus gallus</i>) de 36 semanas incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	92
Cuadro 26. Peso del huevo, pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de gallina ligera estirpe Bovans White (<i>Gallus gallus</i>) incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	93
Cuadro 27. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos de pollitos provenientes de huevos de gallina ligera (<i>Gallus gallus</i>) incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	93
Cuadro 28. Peso, longitud y calidad de los pollitos provenientes de huevos de gallina ligera (<i>Gallus gallus</i>) de la estirpe Bovans White incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	94
Cuadro 29. Concentración de O ₂ (%) y CO ₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Bovans white de 56 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	95
Cuadro 30. Parámetros de incubación en huevos provenientes de gallina reproductora pesada con 37 semanas de la estirpe Ross 308 (<i>Gallus gallus</i>) incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	96
Cuadro 31. Peso del huevo, pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de reproductoras pesadas Ross 308 (<i>Gallus gallus</i>) incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	97
Cuadro 32. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos de pollitos provenientes de huevos de gallina reproductora pesada de la estirpe Ross 308 (<i>Gallus gallus</i>) incubados con concentraciones crecientes de CO ₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.	97

Cuadro 33. Calidad, peso y longitud de los pollitos provenientes de huevos de gallina reproductora pesada de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario. 98

Cuadro 34. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de Ross 308 de 37 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario. 99

ABREVIATURAS

DE	Desarrollo embrionario
MCA	Membrana corioalantoidea
EMDx	Embriodiagnóstico
VL	Ventilación limitada
VS	Ventilación estándar
T3	Triyodotironina
T4	Tetrayodotironina
O₂	Oxígeno
CO₂	Bióxido de Carbono

EVALUACIÓN DEL INCREMENTO DE CO₂ EN LA ETAPA TEMPRANA DE INCUBACIÓN SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN AVES DOMÉSTICAS.

INTRODUCCIÓN

La industria avícola es la actividad pecuaria más importante de México, de los productos pecuarios que consume cada mexicano un poco más de 6 kilogramos son de origen avícola, el consumo *per capita* de pollo en el año 2010 fue de 26.13 kg, mientras que el de huevo fue de 22.8 kg (UNA, 2010).¹ Esta industria contribuye con el 38.1% del PIB pecuario del país y es el cuarto productor de pollo a nivel mundial (UNA, 2010).¹ La incubación artificial es uno de los puntos clave a los cuales la avicultura, debe su éxito. La incubación de los huevos de *Gallus gallus* (Ave que utilizamos para producción de huevo y carne) ha tenido diversas adaptaciones a lo largo del tiempo, las cuales han tenido la finalidad de ir perfeccionando cada vez más el proceso, muchos de estos grandes cambios sucedieron en el siglo XX, transformando a las máquinas de incubación de funcionamiento sencillo en sistemas automatizados de alta tecnología que han generado un aumento en la eficiencia y productividad avícola a nivel mundial (Mc Quoid, 1995).²

El panorama de la incubación ha cambiado a la par del avance en aspectos como la mejora genética en las estirpes de aves actuales, las formas y esquemas de alimentación, los sistemas modernos de balanceo de raciones con base a proteína ideal, el cada vez más efectivo control en el manejo ambiental de las casetas de crianza y producción, las medidas de bioseguridad y sanidad corporativa que han logrado la contención y prevención de las principales enfermedades aviares lo cual junto con una eficaz aplicación de los procesos administrativos ligados a la incorporación creciente de tecnología basada en el control computacional han conducido a la obtención de pollitos de excelente calidad con un mejor arranque desde el nacimiento, lo cual ha conducido a una reducción en el ciclo de producción, aumento en la eficiencia alimenticia, disminución en el riesgo de

transmisión de enfermedades y abaratamiento de los costos de producción con relación a otro tipo de actividades pecuarias (Havenstein *et al.*, 2001),³ todo en su conjunto ha favorecido que se genere una mayor búsqueda de conocimientos en cada una de las áreas involucradas de este proceso productivo, lo cual conduce a proponer nuevas tecnologías y alternativas que permitan mantener esta tasa de avance en el ramo avícola (Peebles *et al.*, 1987; Berry 2003; Tona *et a.*, 2004).^{4,5,6}

1.- REVISIÓN DE LITERATURA

1.1- Importancia del manejo del huevo fértil y su impacto económico.

Una parte importante del ramo productivo avícola que constituye la base física del mismo es la producción de huevo fértil y su incubación (Vázquez *et al*, 2006; Suarez *et al*, 1997).^{7,8} En México es necesario mejorar la eficiencia en el manejo del huevo fértil desde la granja hasta la planta de incubación, esto con especial énfasis en el proceso mismo de la incubación, ya que un objetivo primario debe ser aumentar el número de pollitos de primera calidad eclosionados por cada gallina reproductora alojada en granja, ya que el número de pollitos por ave reproductora en México se encuentra muy por debajo de lo que se recomienda en los manuales de manejo de las dos estirpes de mayor producción en el país (Roos 308®, 2005; Cobb 500 Plus®, 2008).^{9,10} Se ha observado que con base a los resultados de las empresas más importantes de México que reportan sus parámetros de producción obtenidos en la base de información conocida como AgriStat y en los reportes NASS (*National Agricultural Statistics Service, Agricultural Statistics Board, U.S.D.A.*) y ERS (*Economic Research Service, U.S.D.A.*) de los Estados Unidos de Norteamérica, se ha determinado que en las granjas de aves reproductoras mexicanas se obtiene una mayor cantidad de huevos fértiles que los obtenidos por cada ave reproductora alojada en granjas de U.S.A., sin embargo, en México al final del ciclo de incubación se obtiene hasta 40% menos pollitos vivos de primera calidad de un día de edad que los obtenidos por su contraparte norteamericana (Vázquez *et al*, 2006).⁷

Es evidente que año tras año las mejoras genéticas han conducido a contar con aves que muestran un comportamiento fisiológico diferente al de sus predecesoras, esto es cada vez más evidente en las estirpes pesadas de alta conformación productoras de los pollos de engorda con alta tasa de crecimiento. Actualmente los pollos de engorda son capaces de obtener el mismo peso que el obtenido en los ejemplares de las razas que les dieron origen en tan solo una tercera parte del tiempo (Havenstein *et al*, 2003).³ Sin embargo, mientras que el tiempo que pasan los pollos de engorda en las granjas para obtener el mismo peso es cada vez menor, los embriones que dan origen a estas aves siguen requiriendo el mismo periodo de 21 días que dura la incubación, lo cual se traduce en que actualmente un gran porcentaje de la vida del ave la pasa en la incubadora.

Un punto interesante es el que abordan Schaal y Cherian (2005)¹² al analizar los porcentajes de incubabilidad en Estados Unidos de Norteamérica, donde determinaron que a pesar de todos los adelantos en selección genética, nutrición y manejo estos no se reflejaron en un aumento en la eficiencia obtenida en la incubabilidad, resultando una pérdida económica ligada a esta falta de mejora para el año 2005 en una cantidad superior a 500 millones de dólares, cifra que de manera proporcional en nuestro país aun no se conoce, pero que seguramente es significativa económicamente hablando. Esta falta de mejora en la incubación ha conducido a prestar una atención especial a las condiciones bajo las cuales el desarrollo embrionario (DE) de las estirpes modernas ocurre. Como resultado, el conocimiento sobre el control y optimización de las condiciones físicas, químicas y ambientales donde el huevo se incuba se han vuelto cada vez más importantes (Schaal y Cherian, 2005).¹²

Es importante mencionar que el periodo de almacenaje y condiciones ambientales durante el mismo tienen una influencia directa sobre los parámetros de incubación del huevo incubable, ya que tiene repercusiones importantes sobre los componentes del huevo y sobre el cascarón, es conocido que a periodos prolongados de almacenaje se presenta una evidente disminución de la

incubabilidad debido a cambios del pH de los componentes internos del huevo, disminución de unidades Haugh, incremento de la pérdida de agua y CO₂ del huevo (Onagbesan *et al*, 2007).¹³

1.2 - Importancia de las condiciones ambientales durante la incubación.

Se han identificado diversos factores medioambientales que contribuyen al desarrollo primario del embrión, sin embargo, quizá los factores de mayor importancia que tienen influencia sobre este desarrollo son el volteo, la humedad relativa, el intercambio gaseoso y la temperatura. Por otra parte, la ventilación, ha mostrado ser extremadamente importante para el óptimo DE, algo más interesante es que su interacción con los cuatro factores previamente expuestos puede mejorar o agravar los efectos de cada uno de ellos y su interacción sobre el adecuado desarrollo embrionario y por lo tanto sobre la incubabilidad (French 1997; Christensen *et al*, 2005; Brannan 2007).^{14,15,16} Con base a los cambios genéticos y fisiológicos en el embrión de aves de alta conformación en los últimos años se han efectuado diversos estudios que han abordado los principales requerimientos en temperatura, humedad y volteo para el DE de los huevos incubables durante el almacenaje previo a la incubación y durante la misma, sin embargo, existen pocos estudios que tomen en consideración aspectos fisiológicos relacionados a los requerimientos ambientales puntuales durante estas etapas para la tasa adecuada de recambio de oxígeno y CO₂ a lo largo de todo el proceso de incubación y su adecuada relación con la eficiencia sobre la incubabilidad obtenida con huevos fértiles incubables provenientes de reproductoras pesadas y ligeras de diferentes edades y distintas estirpes (Elibol *et al*, 2001; Villamor *et al*, 2004; De Smit *et al*, 2006; Sbond *et al* 2007).^{17, 18, 19, 20} Por lo cual un aspecto importante a estudiar y comprender es el papel que juegan la ventilación y la composición del aire y su relación con las variables físicas de la incubación (Temperatura, humedad relativa y volteo) sobre la incubabilidad, la calidad del producto y su posterior desempeño productivo (Elibol *et al*, 2003; Sbond *et al*, 2007; Lourens *et al*, 2005; Collin *et al*, 2005; Joseph *et al*, 2006; De Smit *et al*, 2006; Hernández 2007).^{19,20,21,22,23,24} Un aspecto importante que tiene

un efecto sobre estas variables y a la cual se le ha dado poca importancia en la mayor parte de los estudios recientes sobre la limitación de O₂ en la incubación temprana es el tipo de modelo, construcción, cantidad, dirección y tipo de flujo de aire en la máquina incubadora empleada (De Smit *et al*, 2006; French, 1997; Yassin *et al* 2008).^{19,25,26} Es importante mencionar que las condiciones ambientales de incubación deben ser adecuadas, constantes y con un margen de error mínimo, por ejemplo, la humedad relativa alta junto con una falta de estabilidad en la temperatura del interior de la incubadora, pueden causar efectos detrimentales sobre la incubabilidad, el peso de los embriones durante el DE y el peso de los pollitos al nacimiento (Yassin *et al* 2008; Wilson, 1991; Bruzual *et al*, 2000).^{26, 27, 28}

1.2.1 - Temperatura durante la incubación

Se ha observado que metabólicamente los requerimientos de temperatura de incubación para los embriones han variado paulatinamente, ya que el embrión al provenir de aves seleccionadas por su alta conformación son cada vez más demandantes debido a su alta velocidad de crecimiento, por lo cual el calor metabólico requerido y generado durante la incubación es mucho mayor, esta situación se acentúa cuando el peso del huevo aumenta progresivamente durante el ciclo de producción, por lo cual sus requerimientos de temperatura muestran un patrón de cambio en sus requerimientos de temperatura conforme el periodo de incubación avanza, cuando eclosiona e incluso cuando el pollito inicia su periodo de crianza y desarrollo, lo cual esta muy ligado con su consumo de O₂ y su patrón de eliminación de CO₂ (French, 1997; Tona *et al*, 2004; Yildirim y Aygün, 2005; Collin *et al*, 2005; Lourens *et al*, 2006; Elibol y Brake, 2008).^{14,22, 25, 29,30}

De acuerdo con estudios recientes realizados en países de la comunidad económica europea, se ha puesto en evidencia que el embrión de alta conformación presenta cambios en su metabolismo relacionados con su temperatura durante el desarrollo embrionario. Durante el DE el periodo que va del día 0 al 7 el embrión es endotérmico, puesto que su desarrollo depende

completamente del calor recibido, a partir del día 8 al 14 de (DE) se encuentra en un estado de aparente neutralidad, mientras que del día 15 al 21 (DE) es evidente que este se comporta de manera exotérmica, estos nuevos conocimientos han logrado establecer cambios en las condiciones de temperatura durante la incubación. En algunos países europeos se ha establecido que el embrión durante su etapa temprana de desarrollo debe recibir 38°C de temperatura ambiental en la incubación, 37.2°C durante su etapa intermedia y 36.9°C durante la etapa final del desarrollo embrionario.

Por otra parte los sistemas de incubación multietápicos actualmente han mostrado ser deficientes para lograr una alta incubabilidad y tasa de eclosión, situación que se vuelve más crítica si los huevos fértiles incubables son de gran tamaño (Yildirim y Aygün 2005; Lourens *et al*, 2006, Brannan 2007).^{16,29} Se ha observado que la interrelación entre los requerimientos de temperatura y humedad ambiental a lo largo del periodo de incubación muestran un perfil de cambio, si se logra efectuar adecuadamente el manejo de estas variables se evidencian mejoras en la incubación unietápica y *Plenum*, diferente a cuando se emplean los parámetros comúnmente empleados durante los últimos años en las plantas de incubación comercial con sistemas multietápicos y ambientales (Bruzual *et al*, 2000; Peebles *et al*, 2001).^{31, 32}

1.2.2 - Intercambio gaseoso y Desarrollo embrionario.

El embrión presenta un crecimiento de tipo exponencial durante las dos primeras semanas del desarrollo embrionario, la demanda de oxígeno debe ser cubierta de forma adecuada. Durante la mayor parte de la incubación el embrión necesita oxígeno, para satisfacer este requerimiento depende principalmente de tres estructuras que se encargan de realizar el intercambio gaseoso; en un principio éste se efectúa a través de estructuras vasculares simples (área de la vasculosa) la cual es una red sanguínea que cubre al vitelo, más tarde lo hace por medio de una estructura un poco más compleja de tipo vascular que es la membrana coriónica, estructura al día 4 de DE en que aumenta su tamaño se desplaza hacia

el área alantoidea del huevo embrionado, en ese momento se conoce como membrana corioalantoidea (MCA), alrededor del sexto día de desarrollo embrionario la MCA hace contacto con la superficie interna del cascarón y recubre por completo la parte interior de la membrana albuminífera, al finalizar el día doce de DE; el intercambio gaseoso se realiza a través de los poros del cascarón por medio de difusión (Ar y Rahn, 1978; Yassin *et al* 2008; Onagbesan *et al*, 2007).^{13,26,33} Al día 18 (DE) el embrión se enfrenta a un estímulo previo y creciente de baja presión parcial de oxígeno en el interior de la cámara de aire (Hasta 14%), por lo cual en respuesta a este y al aumento de bióxido de carbono (Hasta 6%) interno, el embrión muestra signos morfofisiológicos de estrés agudo, los cuales son generados a través de un sistema de retroalimentación positiva con niveles crecientes de cortisol y la activación de T3 y T4; el embrión pica la membrana interna del cascarón para acceder a la cámara de aire, dando inicio el cambio de respiración de MCA a respiración pulmonar; en forma gradual se incrementa el intercambio gaseoso por vía pulmonar y disminuye el intercambio gaseoso dependiente de la MCA, esta transición en los sistemas fisiológicos de respiración dura aproximadamente de 4 a 6 horas, esta es una etapa muy delicada en la vida del embrión, ya que si este no logra adaptarse al nuevo sistema de respiración termina asfixiado, lo cual incrementa significativamente la mortalidad tardía, aproximadamente doce horas después de haber iniciado la respiración pulmonar, el embrión comienza a picar el cascarón iniciando la eclosión del pollito, en esta etapa el consumo de oxígeno aumenta drásticamente, por lo tanto se deben considerar las condiciones ambientales de incubación con la finalidad de obtener una mayor uniformidad en el nacimiento y un menor espacio de tiempo en la ventana de nacimientos que conduzca a un aumento en la viabilidad de los pollitos en esta etapa productiva, ya que los pollitos son muy sensibles a los cambios físicos y atmosféricos que suceden en el medio ambiente generado dentro de la incubadora (Burton *et al*, 1985; French, 1997; Christensen *et a.*, 2005; Hernández , 2007; Szdzyu, 2007).^{14,15,24,34,72}

1.2.3 - Concentraciones de O₂ y CO₂ en el desarrollo embrionario.

Por otra parte se ha descrito el impacto que tienen las concentraciones de O₂ y CO₂ sobre el desarrollo del embrión, ya que algunos estudios han confirmado que al presentarse condiciones de hipoxia severa durante la incubación, se presenta disminución de la masa total de la MCA, lo cual se relaciona con alta mortalidad y la disminución en los parámetros productivos de las aves. (Riujtenbeek *et al*, 2000; Rowet *et al*, 2002; Villamor *et al*, 2004; Chan y Burggren, 2005; Sbong *et al*, 2007; Onagbesan *et al*, 2007).^{13, 18, 20, 35, 36, 37}

En algunos estudios se ha determinado que la restricción de O₂ durante la incubación se encuentra relacionada con el retraso del desarrollo embrionario, así como con la aparición de malformaciones congénitas en diversos órganos debido a las diferentes tasas de crecimiento alométrico de los tejidos, disminución de la longitud del pico y malformaciones en ojo (Rowet *et al*, 2002; Villamor *et al*, 2004; Chan y Burggren, 2005).^{18,36,37} Se ha descrito que el aumento de CO₂ y la disminución de O₂ en algunas etapas críticas de la incubación generan problemas de desarrollo como hipertrofia y disminución del lumen de la arteria aorta, hipertrofia cardiaca izquierda, hipertrofia cardiaca derecha y aumento de tamaño del septo interventricular, así como cambios en la relación de los diversos componentes sanguíneos, comúnmente se ha descrito eritrocitosis relativa. Sin embargo dichos cambios hematológicos en las aves aparentemente se encuentran ligados a la presencia de síndrome ascítico en el pollo de engorda durante la etapa productiva (Chan y Burggren, 2005; Paash, 1991; Julian, 1993; Burton y Smit, 1967; Geyra *et al*, 2001).^{37, 38,39, 40,41}

1.3- Principios de la ventilación limitada en la incubación

La relación aparente entre ventilación limitada durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario, que corresponde prácticamente a la mitad del proceso de incubación, con la obtención de pollitos de mejor calidad se basa en el aumento progresivo de las concentraciones de CO₂ desde las primeras 48 horas de incubación hasta el día 10 (DE) estas cantidades de CO₂ generan tolerancia del

embrión a este gas, se menciona la existencia de mecanismos epigenéticos que favorecen la velocidad de desarrollo del embrión, este evento fisiológico se ha evidenciado verificando los niveles de participación y cantidad proporcional de las hormonas triyodotironina (T3), tiroxina (T4), proporción T3/T4 y cortisol, las cuales en condiciones de ventilación limitada se ha observado aumentan o modifican su concentración en el plasma en embriones a las 468 horas de incubación, en comparación a embriones que recibieron un régimen de incubación tradicional. (De Smit *et al*, 2006; Bruggeman *et al*, 2007; De Smit *et al*, 2008).^{19, 42, 43}

1.4- Efectos de ventilación limitada sobre el desarrollo embrionario.

Hay evidencia reciente que indica que con una mayor concentración de CO₂ en las etapas tempranas del DE la tasa de viabilidad de los embriones aumenta, en algunas líneas genéticas de reproductoras existe una mejora en los parámetros de incubación de hasta 10% valores mayores a los observados en los embriones incubados bajo condiciones estándar de ventilación (multietápico), se menciona además que no existe ningún efecto negativo sobre la velocidad en el desarrollo de los diferentes órganos, además de verificarse un incremento hormonal de (T3), (T4) y cortisol plasmático, al mismo tiempo los pollitos nacen más rápido y se reduce la ventana de nacimientos, por lo cual se obtiene un mayor número de pollitos de mejor calidad, los cuales presentan un mejor rendimiento durante su vida productiva (Willemsem *et al*, 2008; Tona *et al*, 2003; Chan y Burggren, 2005; De Smit *et al*, 2006; Milene *et al*, 2007; De Smit *et al*, 2008).^{19,37,43,44,53,55} Sin embargo, en este tipo de investigaciones no se han descrito adecuadamente las condiciones técnicas, el modelaje del sistema de ventilación de la máquina incubadora que describa puntualmente la condición descrita como tratamiento de no-ventilación, el recambio de aire por unidad de medida cúbica en cada etapa de la incubación, con lo cual de acuerdo a lo descrito por French (1997)¹⁴ y Elibol y Brake (2008)²⁵ para tener repetibilidad estadística experimental y poder constatar estos hallazgos debe especificarse si la condición de no-ventilación se refiere al apagado del sistema de ventilación interna que homogeniza las variables de incubación (Temperatura, humedad relativa e intercambio gaseoso), o bien al

cierre de las aperturas de admisión de aire fresco (Damper) o ambas, esto debido a que el flujo del aire alrededor del cascarón bajo estas circunstancias es mucho más importante que incluso la temperatura o humedad de la misma máquina incubadora (French, 1997; Yassin *et al* 2008; Brannan, 2007; Elibol y Brake, 2008).^{14,16,25,26}

1.5 - Ventilación limitada y producción hormonal.

El equilibrio hormonal entre T3, T4 y cortisol es de suma importancia para el desarrollo embrionario durante la incubación, ya que influye directamente en la tasa metabólica del embrión y por lo tanto en su supervivencia. En condiciones ambientales ideales de incubación las concentraciones plasmáticas de T3 y T4 aumentan paulatinamente, el incremento de estas hormonas a su vez se relaciona con incrementos en los niveles de cortisol en el plasma de los embriones, dicho aumento se relaciona de forma directa con el mantenimiento de la homeostasis en la etapa prenatal. En condiciones ambientales de incubación utilizando la ventilación limitada el aumento en las concentraciones plasmáticas de estas hormonas se encuentra correlacionada a periodos de estrés transitorios de los embriones generados principalmente por la hipoxia y la hipercapnia resultante, lo cual también se relaciona con la disminución en el tiempo total de la ventana de nacimientos, la posible explicación de este evento se debe a que al generarse en el embrión un estado de estrés existe un mecanismo neurológico de tipo quimosensible posiblemente a nivel de control apneutico que ante la deprivación de O₂ acelera el rápido establecimiento de un canal de retroalimentación positiva entre hipotálamo, hipófisis y glándula tiroides, lo cual permite el aumento de los niveles de T3, T4 y consecuentemente a través de la activación adrenocorticotrópica de cortisol, esta sustancia que a su vez tiene efecto directo sobre los pulmones, el efecto generado en el embrión hace que al percibir una disminución en el aporte de oxígeno, se disminuya el tiempo para el picaje interno en cámara y por lo tanto también el picaje externo del cascarón. (Chan y Burggren, 2005; Tona *et al*, 2003; Epple *et al*, 1997).^{37, 45, 46}

En investigaciones recientes se ha mostrado que al existir una disminución del tiempo de la ventana de nacimientos los embriones ya eclosionados se alimentan más rápido, esto a su vez se relaciona con una mejor ganancia de peso durante la etapa productiva (Sklan *et al*, 2000; Uni *et al*, 1999; De Smit *et al*, 2006).^{47,48,49} Por otra parte la influencia de T3, T4 y cortisol en el desarrollo embrionario favorecen el desarrollo temprano de órganos específicos promoviendo el aumento de la masa pulmonar, cardíaca y de la MCA, esto también se encuentra relacionado con los efectos sobre la respuesta respiratoria, cardiovascular y sobre la capacidad del embrión para poder regular su propio intercambio gaseoso antes del nacimiento (Epple *et al*, 1997; Spong y Dzialowsky, 2007).^{20,46} Otros estudios han mostrado que al existir niveles adecuados de cortisol se incrementa la tasa de desarrollo de las vellosidades intestinales, dicho evento ha sido observado en estudios realizados bajo condiciones *in vitro* (Pedernera, 1972)⁵⁰ lo cual es de gran importancia ya que ha sentado las bases para investigaciones futuras relacionadas con alimentación *in ovo* y alimentación perinatal del pollo neonato (Uni *et al*, 2003; Tako *et al*, 2004).^{49,51} Estas bases fisiológicas se relacionan con la obtención de mayor cantidad y mejor calidad de los embriones en aves, lo cual favorece una mejor productividad en el pollo de engorda. (Geyra *et al*, 2001; Geyra *et al*, 2002; De Smit *et al*, 2006).^{19, 41, 52}

1.6- Calidad del pollito como herramienta para evaluar condiciones de incubación.

La evaluación de calidad en la nacedora es una práctica muy difundida que se realiza para seleccionar pollitos uniformes que presenten las mejores cualidades físicas, con el fin de obtener mayor uniformidad en la parvada y lograr que los parámetros productivos de las aves se acerquen en la medida de lo posible a lo que establecen los manuales de producción para las diferentes estirpes. (Willemsem *et al*, 2008; Chan *et al*, 2005; Onagbesan *et al*, 2007)^{13, 37, 53} También ayuda a evaluar de manera indirecta a las aves reproductoras, calidad del huevo incubable, condiciones de almacenamiento previas a la incubación y sobre todo las condiciones ambientales presentes durante la misma (Lourens, *et al* 2005).⁵⁴

Por otra parte sirve también para predecir algunas características de desempeño productivo de las aves, por ejemplo, se sabe que el peso del pollito a los siete días de edad se correlaciona fuertemente, con el peso que tendrán a los 49 días de edad (Willemsem *et al*, 2008; Tona *et al*, 2003; Onagbesan, 2007; López 2009).^{13,37,55,56} El estado de salud, condición corporal, desempeño productivo y edad de las aves reproductoras, se refleja en su capacidad de ovopositar huevos fértiles de alta calidad tanto en sus componentes internos (viscosidad, pH de yema y albúmina) y externos (tamaño del huevo, calidad, peso, grosor y porosidad del cascarón). (O´Dea, 2004).⁵⁷ Estos parámetros a medir tiene gran relevancia, ya que diferentes autores han encontrado que el tamaño del huevo se relaciona principalmente con el tamaño del pollito y su longitud, por otra parte el estado nutricional de las aves reproductoras se puede evaluar por medio de la coloración y apariencia de la pluma de los pollitos recién nacidos. El estado de salud de las reproductoras se relaciona con la apariencia general del pollito eclosionado a partir de estas mismas aves, su actitud y estado de alerta al nacimiento, así como por la velocidad de absorción del saco vitelino residual y la presencia o ausencia de ciertos defectos físicos tales como malformaciones en patas, dedos, cráneo o pico (Tona *et al*, 2005).⁵⁸

El manejo del huevo previo a la incubación debe ser evaluado y supervisado muy estrechamente, ya que prácticas tales como recolección, número de días de almacenaje y temperatura de almacenamiento se verán reflejadas en pérdida de peso del huevo, el peso y calidad del pollito al nacimiento (Fasenko y O´dea, 2008).⁵⁹ Estas características también se pueden observar de forma indirecta en la afectación de ciertos parámetros de incubación como son el porcentaje de incubabilidad y duración de la ventana de nacimientos (Vázquez *et al* 2006; Suarez, *et al* 2007).^{7,8}

Las condiciones ambientales presentes durante todo el periodo de incubación y durante la embriogénesis como son la temperatura, la humedad relativa, la frecuencia de movimiento del huevo y la ventilación se verán reflejadas en el cierre adecuado de cavidades, adecuada cicatrización de ombligos, velocidad de

nacimiento del pollito, cantidad de esfuerzo del pollito al nacer y duración de la ventana de nacimientos (Fasenko y O´dea, 2008; Yildirim, 2004; Peebles y Keirs, 2005; Leksrisompong, 2007; Hullet *et al*, 2007; Elibol y Brake, 2006).^{29,59,60,61,62,63,64} Además de algunos aspectos físicos y algunos parámetros tales como el porcentaje de incubabilidad, peso al nacimiento, pérdida de peso del pollito con respecto al huevo, grado de hidratación, porcentaje de embriones en mala posición, cicatrización adecuada del ombligo, problemas de patas, tarsos, aspecto y vivacidad, los cuales tienen un valor predictivo en el desempeño de las aves, debido a que la obtención de calificaciones bajas en las evaluaciones de calidad pueden afectar su posterior desempeño productivo (Peebles y Keirs, 2005; Wolansky *et al*, 2006).^{60,65} Aquí es muy importante el uso de una escala de calidad que sea fácil de aplicar, no invasiva y que muestre una fuerte correlación con los principales parámetros productivos del pollo (Willemsem *et al*, 2008; López *et al*, 2009).^{53, 56}

1.7- Interacción de las condiciones ambientales sobre el desempeño productivo.

En el proceso de producción de pollitos de engorda de alta conformación y rápido crecimiento una amplia proporción de la investigación reciente se ha enfocado en los factores previos a la incubación, tales como son la dieta, la edad de las aves reproductora, las condiciones de almacenamiento del huevo fértil (Peebles *et al*, 2001; Baumann *et al*, 1983; Tona *et al*, 2003),^{66,67,68} mientras que en la incubación la investigación efectuada se ha relacionado con distintos factores genéticos de las aves y su influencia en la vida productiva, o bien con la temperatura y humedad relativa de las máquinas en el desarrollo embrionario de las aves de alta conformación (Bruzual *et al*, 2000; Peebles *et al*, 2001; Elibol *et al*, 2003).^{31,32,69} En contraparte existen pocos estudios que determinen la relación que existe entre las condiciones ambientales durante la incubación, el intercambio gaseoso y el desarrollo embrionario temprano con relación al desarrollo embrionario tardío, los parámetros de incubabilidad y sus efectos sobre la eclosión como son la calidad del pollito, así como la casuística de la mortalidad en las diferentes etapas

atribuida al desarrollo morfológico y a la eficiencia en la respiración del embrión durante cada una de las etapas de la incubación (Suarez *et al*, 1997; Rowet *et al*, 2002; Kuurman *et al*, 2003; De Smit *et al*, 2006).^{8,19,36,70}

Se ha investigado poco sobre la relación que existe entre el manejo ambiental en el interior de la incubadora con las condiciones de ventilación limitada, generación de hipoxia temprana, normoxia media e hiperoxia tardía así como la relación existente entre estas diferentes condiciones con la aceleración de la morfogénesis de los diferentes órganos del embrión, parámetros de incubación, cambios en los valores hematológicos, producción de hormonas indicadoras de estrés y nivel de metabolismo basal posterior al periodo de hipoxia, evaluación de la ventana de nacimientos y grado de modificación en el patrón fisiológico de respuesta a condiciones de hipoxia e hipercapnia tempranas sobre el pollito eclosionado, así como su relación directa con la calidad del pollito de un día de edad y las posibles repercusiones relacionadas con su posterior rendimiento en granja y el posible desarrollo de algunas patologías que se relacionan de forma directa con condiciones medioambientales críticas durante el desarrollo embrionario (Hipoxia e hipercapnia temprana), como es el caso del síndrome ascítico o la ganancia de peso a los 49 días de edad (Burton *et al*, 1969; Burton *et al*, 1985; Mc Millan y Quinton, 2002; Rowet *et al*, 2002; Tona, *et al* 2001; De Smit *et al*, 2008; Willemsem *et al*, 2008).^{36,43,53,71,72,73,74}

2.- JUSTIFICACION DEL TRABAJO

La ventilación limitada tiene un efecto directo sobre el desarrollo embrionario, sin embargo, es necesario establecer si existe una relación entre el aumento de CO₂ al inicio de la incubación, la limitación de O₂ durante esta etapa y su efecto sobre el desarrollo del sistema respiratorio primario (MCA) y sus posibles repercusiones sobre el embrión durante el desarrollo embrionario tardío y la calidad del pollito eclosionado, pérdida de peso en forma de vapor de agua al momento del inicio de la respiración pulmonar, número total de pollitos eclosionados y grado de calidad

de los mismos, además de considerar el papel que tienen las variables de incubación en la formación de los principales órganos de las aves a nivel de desarrollo embrionario con la finalidad de relacionar estos resultados con la aplicación de un sistema de ventilación limitada al interior de las máquinas incubadoras durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario y comprobar si representa un beneficio para los embriones y pollos eclosionados que han sido incubados bajo estas condiciones.

3.- HIPOTESIS

Si se limita la ventilación durante el periodo temprano de incubación se favorece un óptimo desarrollo del embrión, aumenta la tasa de eclosión y no se afecta en forma negativa morfológica o fisiológicamente al embrión y la calidad del pollito recién nacido.

4.- OBJETIVOS

4.1- OBJETIVO GENERAL.

Determinar la relación existente entre los cambios morfológicos y parámetros de incubación obtenidos durante el desarrollo embrionario, bajo dos diferentes concentraciones de CO₂ en la etapa temprana de la incubación efectuada a gran altitud, por medio de ventilación constante o ventilación limitada con la finalidad de determinar el mejor protocolo de incubación que considere los niveles óptimos de gases para una incubación exitosa.

4.2- OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Registrar durante la incubación los niveles de producción O₂ y CO₂ en las máquinas incubadoras bajo condiciones de ventilación limitada y ventilación estándar.
- Evaluar los porcentajes de incubabilidad y natalidad de huevos fértiles incubados con ventilación limitada y ventilación estándar.
- Determinar si existe relación entre la ventilación limitada y la ventilación estándar con los pesos relativos de diferentes órganos del embrión y los pollitos neonatos.

- Evaluar la influencia de la ventilación limitada durante la etapa temprana de la incubación sobre el conteo celular sanguíneo, así como sobre las concentraciones plasmáticas de T3, T4 y cortisol en embriones y pollitos neonatos.
- Evaluar las causas de mortalidad en las diferentes etapas del desarrollo embrionario de huevos fértiles incubados tempranamente bajo condiciones de ventilación limitada durante la incubación a gran altitud.
- Determinar cronológicamente la ventana de nacimientos entre grupos experimentales sometidos a condiciones de ventilación limitada y ventilación estándar y su relación con el grado de desarrollo corporal y viabilidad de los pollitos neonatos.
- Diseñar y aplicar una escala de calidad no invasiva para la evaluación de pollitos recién nacidos provenientes de los tratamientos de ventilación limitada y ventilación estándar.
- Evaluar y comparar la calidad de los pollitos recién nacidos bajo condiciones de ventilación limitada y ventilación estándar mediante el uso de una escala de evaluación cuantitativa, no invasiva y que se relacione con los parámetros productivos de mayor importancia.
- Determinar si existen diferencias significativas en los parámetros de incubación con ventilación limitada y ventilación estándar entre dos estirpes de aves (ligeras y pesadas).

5.- MATERIALY MÉTODOS

5.1- *Diseño experimental*

Se realizaron seis experimentos, en cada uno se contó con dos grupos experimentales que emplearon el mismo número y modelo de máquinas incubadoras (6 máquinas con capacidad de 42 huevos incubables cada una).

Se evaluaron huevos incubables provenientes de estirpes ligeras y pesadas provenientes de aves reproductoras de diferentes edades con diferentes condiciones de almacenamiento.

En el primer grupo experimental (Tratamiento I) de ventilación limitada, las máquinas incubadoras fueron modificadas mediante un sellado del dámper y los exhaucios, lo cual permitió que las concentraciones de CO₂ se incrementaran de forma natural y de manera paulatina al interior de las máquinas durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

El sellado de las incubadoras fue implementado desde el inicio de la incubación hasta el día 10 de incubación (240 horas). Se ajustaron las condiciones de humedad relativa al interior antes de colocar los sellos en las máquinas.

Una vez que terminó el plazo establecido para condiciones de ventilación limitada, las máquinas incubadoras continuaron trabajando bajo condiciones ambientales estándar, de las 240 horas de incubación hasta las 504 horas de incubación; esto se logró mediante el retiro de los sellos que se habían colocado previamente en las máquinas.

El segundo grupo (Tratamiento II) se mantuvo durante todo el experimento bajo condiciones de ventilación estándar, permitiendo el ingreso continuo de aire fresco al interior de las máquinas, esto de acuerdo a las especificaciones recomendadas por el fabricante de las máquinas incubadoras.

Del día 1 al 21 de incubación se mantuvieron las máquinas sin ningún tipo de sellado, se agregó agua cada 48 horas y se verificó el movimiento constante del huevo en cada una de ellas.

Diseño experimental

EXPERIMENTO	PARAMETROS A EVALUAR	ESTIRPE	EDAD AVES REPRODUCTORAS
EXPERIMENTO I	Parámetros de incubación Pesos relativos de órganos* Evaluación de pollito recién nacido Alta concentración de CO₂ (arriba de 15,000 ppm)*	Bovans White	33 semanas
EXPERIMENTO II	Parámetros de incubación Evaluación de pollito recién nacido Alta concentración de CO ₂ (arriba de 15,000 ppm)	Bovans White	36 semanas*
EXPERIMENTO III	Parámetros de incubación Evaluación de pollito recién nacido Concentraciones plasmáticas T3, T4 cortisol* Alta concentración de CO ₂ (arriba de 15,000ppm)	Bovans White	40 semanas
EXPERIMENTO IV	Parámetros de incubación Evaluación de pollito recién nacido Conteo y porcentaje de células sanguíneas* Pesos relativos de órganos* Alta concentración de CO ₂ (arriba de 15,000ppm)	Ross 308*	52 semanas.
EXPERIMENTO V	Parámetros de incubación Producción de cantidad óptima de CO₂ (10,000 a 15,000 ppm)*	Bovans	36 semanas

		White	
EXPERIMENTO VI	Parámetros de incubación Evaluación de pollito recién nacido Producción de cantidad óptima de CO₂ (10,000 a 15,000 ppm)*	Ross 308	37 semanas*

*Texto resaltado con negritas, indica las diferencias entre los experimentos

5.1.1- Huevos incubables

Los huevos aptos para incubación en los experimentos I, II, III y V fueron de aves reproductoras ligeras de la estirpe Bovans White de 31,36 40 y nuevamente de 36 semanas respectivamente §.

El huevo empleado en el experimento IV fue de aves reproductoras pesadas de la estirpe Ross 308 de 52 semanas. ¢

El huevo empleado en el experimento VI fue de aves reproductoras pesadas Ross 308 de 37 semanas. Φ

§ IMSA®, Incubadora mexicana S. A, grupo IDISA. Tehuacán, Puebla.

¢ Empresa privada ubicada en Córdoba, Veracruz

Φ Empresa privada ubicada en Jojutla, Morelos.

5.1.2 - Máquinas incubadoras y condiciones de incubación

De acuerdo al experimento se emplearon de 6 a 8 incubadoras con capacidad de n=42 huevos incubables).[∞] Al interior de las mismas se empleó un sistema de movimiento automatizado que permitió realizar un movimiento continuo del huevo con un ángulo de 45° sobre su eje vertical cada 60 minutos. Al inicio de la incubación y con la finalidad de obtener el porcentaje de pérdida de peso por tratamientos, cada huevo fértil fue pesado de forma individual antes de ser colocado en la incubadora. A partir del día uno de incubación y hasta las 240 horas se colocaron sellos a base de cinta de poliestireno[»] en las máquinas incubadoras del tratamiento de ventilación limitada, una vez finalizado este periodo se retiraron los sellos de las incubadoras y estas continuaron trabajando bajo condiciones ambientales estándar.

Al día 10 de incubación se realizó una selección aleatoria de 10 embriones por tratamiento para calcular el porcentaje de pérdida de peso al día 10 de incubación, posteriormente los embriones fueron devueltos a cada máquina incubadora. A partir del día 1 de incubación y hasta las 444 horas (transferencia) se mantuvo la temperatura a 37.7°C

A partir de las 444 horas se realizó la transferencia embrionaria, se ovoscopiaron y fueron retirados todos los embriones con evidencia de mortalidad, se pesaron individualmente todos los huevos embrionados para obtener el porcentaje de pérdida de peso de la incubación.

[∞] GQF incubators Manufacturing Company INC. Savannah, Georgia U.S.A HOVA-BATOR® modelo 1583 (2009) y modelo 2362 (2008).

[»] 3M de México S.A de C.V®

De las 444 horas hasta el final de cada experimento, la temperatura se mantuvo constante en 37.2°C. Se registraron diariamente la temperatura, humedad relativa y concentraciones de O₂ y CO₂ al interior de las máquinas incubadoras. La humedad relativa se midió con un higrómetro de tensión variable.^p Se realizaron mediciones de temperatura al interior de las incubadoras con termómetros de columna mercurial de 75mm con rango de 0 a 100°C previamente verificados con un termómetro patrón certificado por el Instituto Nacional de metrología y normalización.

La concentración de gases fue medida por un equipo integrado por separado con una celda galvánica que permitió medir el porcentaje de O₂ y con un sensor infrarrojo las concentraciones de CO₂ en ppm.^{ce}

Las concentraciones de gases así como la humedad relativa en el tratamiento I fueron registradas a partir de las 240 horas de incubación, esto después de retirar los sellos en las incubadoras.

^p Taylor Precision Products® Comercializadora Mofeg S.A de C.V.
^{ce} ANALOX Sensor Technology. Huntington Beach, California, 92649, USA.

5.1.3- *Parámetros de incubación a evaluar.*

En todos los experimentos, se determinó la pérdida de humedad de los huevos de cada máquina al día 10 y 18 DE. Mediante la diferencia del peso inicial del huevo menos la diferencia al día 10 y 18 DE. Adicional a la determinación de la fertilidad de cada uno de los lotes de huevos fértiles asignados aleatoriamente a cada uno de los tratamientos, se evaluó la tasa de natalidad, para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

(Porcentaje total de nacidos ÷ Porcentaje de huevos incubados) x 100= Porcentaje de nacidos del total de huevos incubados (natalidad)

$$\text{Tasa de Natalidad} = \frac{\text{Porcentaje total de nacidos}}{\text{Porcentaje de huevos incubados}} \times 100$$

Para evaluar la incubabilidad se empleó la siguiente fórmula:

(Porcentaje total de nacidos ÷ Porcentaje de huevos fértiles) x 100= Porcentaje de nacidos de huevos fértiles (incubabilidad).

$$\text{Incubabilidad} = \frac{\text{Porcentaje total de nacidos}}{\text{Porcentaje de huevos fértiles}} \times 100$$

5.1.4 *Ventana de Nacimientos*

Posterior a la transferencia del huevo embrionado y a partir de las 468 horas, la ventana de nacimientos se evaluó cada dos horas mediante el registro en horas de incubación del primero hasta el último pollito eclosionado.

5.1.5 Evaluación de la calidad de los pollitos recién nacidos

Se consideraron 12 parámetros de calidad en el pollito que se encuentran relacionados con procesos productivos de importancia, estos fueron los siguientes: Actividad del pollito, apariencia general del pollito, condición ocular, apariencia de tarsos, conformación de tarsos, metatarsos y dedos, evaluación de ombligos, determinación de tamaño de saco vitelino residual, aspecto de cloaca, remanentes de membranas, longitud total del pollito, longitud de tarsos, así como peso promedio del pollito al nacimiento, coeficiente de variación en el peso de los pollitos. (López, *et al* 2009; Boerjan, *et al* 2005; Hernández *et al*, 2007; Tona, *et al* 2003; Wolansky *et al*, 2008).^{24, 55, 56, 75, 76}

La metodología de evaluación se realizó con base a una escala de calidad no invasiva con una calificación de 100 puntos como máxima puntuación, en donde cada uno de los parámetros de calidad tuvo una calificación variable de acuerdo a una ponderación de la importancia en relación al efecto sobre la etapa productiva posterior de los pollitos.

Se obtuvo un promedio de calificación en puntos por cada tratamiento de ventilación limitada y de ventilación estándar. De acuerdo al puntaje promedio obtenido de cada máquina se le otorgó una calificación de 100 puntos = Excelente, 85 a 99 = buena, 75 a 84= regular, 60 a 74= Deficiente y menor a 60 = inaceptable (López, *et al* 2009).⁵⁶

La metodología para la evaluación de calidad del pollito fue la siguiente:

Parámetro a Evaluar	Metodología de Evaluación	Puntuación
*ACTIVIDAD DEL POLLITO	Se coloca al pollito en decúbito dorsal sobre la palma de la mano, se toma el tiempo en el que el pollito se pone de pie	Buena (se levanta rápidamente) = 8 Débil (tarda mucho) = 4 puntos. Muy débil (permanece postrado)= 0
APARIENCIA DEL POLLITO	Observar apariencia externa del pollito, estado de plumas, (uniformidad, coloración y aspecto).	Limpio y seco = 8 Húmedo = 4 Húmedo y sucio= 0
*CONDICION OCULAR	Colocar a los pollitos de pie, observar condición de los ojos, separación, brillo, apertura e integridad de los párpados.	Abiertos con brillo = 8 Abiertos y sin brillo = 4 Cerrados = 0
CONDICION DE PIERNAS	Se observa al pollito y trata de identificar lesiones presentes en articulaciones, signos de inflamación tales como enrojecimientos y hemorragias	Pies y piernas normales = 8 Una edematosa = 4 Ambas edematosas con sx plenos de inflamación (Rojas) = 0
*EVALUACIÓN OMBLIGOS	Se coloca al pollito sobre la palma de la mano, se observa la zona del ombligo y se desliza el dedo pulgar gentilmente sobre el ombligo.	Completamente cerrado y limpio = 10 No cerrado completamente descolorido = 4 Sin cerrar con boton = 0
*SACO VITELINO RESIDUAL	se efectúa una palpación abdominal, para lo cual se coloca al pollito en posición decúbito dorsal, de forma cualitativa se evalúa el grado de elevación y consistencia del abdomen.	Sin SVR aparente (Poco) = 8 Mediano (medio) = 4 Grande= 2 Muy grande (distendido) = 0
REMANENTES DE MEMBRANAS	Se observa al pollito, se determina si se encuentran o no restos de membranas, estructuras internas del cascarón y residuos de yema sobre la superficie de las plumas.	Sin remanentes = 8 Pequeñas = 4 Grande = 2 Muy grande con yema = 0
LONGITUD DEL POLLITO	El pollito se coloca en decúbito dorsal sobre una regla métrica, se coloca la punta del pico de manera que coincida con el cero y se estira gentilmente el dedo medio del pie izquierdo, se realiza la lectura en la falange distal del dedo medio sin considerar la uña y se registra la longitud en centímetros.	Edad R- 25-35 R- 36-45 R-46 a 64 De 19 a 20 cm = 10 De 16 a 18 cm = 4 Menor a 16 cm = 0
	Se evalúa mediante observación directa	Limpia = 8 Húmeda = 4

ASPECTO DE CLOACA		Pastosa =0
*ESTADO DE TARSO-METATARSO Y DEDOS	Se coloca al pollito de pie sobre una superficie plana, observar posición, defectos físicos, rotación de piernas, dedos torcidos.	Normales = 8 Ligeramente Torcidos = 4 Torcidos =0
PESO CORPORAL	Se pesa al pollito en una báscula digital, se registra el peso en gramos obtenido por cada pollito.	Edad R- 25-35 R- 36-45 R-46 a 64 > 42 g = 8 38 a 42 g= 4 < 38g = 0
*DESHIDRATACIÓN	Se observa el grado de deshidratación del pollito.	Nula = 8 Intermedia = 4 Excesiva = 0

5.1.6- Desarrollo embrionario y evaluación de mortalidad embrionaria por etapas

Al día 18 de incubación una vez realizada la transferencia, se registraron mortalidades embrionarias por grupo experimental de incubación y por etapas, las cuales fueron las siguientes: Etapa I (día 1 al 7) Etapa II (día 8 al 17), etapa III (día 18 al 21) y etapa IV (Picados no nacidos) en ambos tratamientos se efectuaron registros de mortalidad así como grado de desarrollo embrionario macroscópico (Suarez *et al*, 1997; Vázquez, *et al* 2006).^{7,8}

Posterior a la transferencia del huevo, a partir de las 468 horas de incubación se evaluó la ventana de nacimientos cada dos horas mediante el registro en horas de incubación del primero al último pollito eclosionado (De Smith *et al*, 2006).¹⁹

5.1.7- Hemograma de embriones y pollitos de un día de edad.

En el experimento IV al día 18 de desarrollo embrionario y al nacimiento de las aves, se colectaron muestras de sangre por medio de corte de la arteria central del saco vitelino y por decapitación cervical en el caso de los pollitos recién eclosionados.

Las muestras de sangre obtenidas fueron almacenadas en tubos con contenido de E.D.T.A., las muestras fueron procesadas inmediatamente, se midió hematocrito mediante microcentrifugación de tubos capilares, se realizaron conteos de glóbulos rojos y blancos, para lo cual fue empleada la solución de Natt & Herricks, se efectuaron extendidos de células sanguíneas en laminillas para su tinción posterior con Wright, se realizaron conteos para diferenciación relativa de células sanguíneas (Chan *et al*, 2005; Charles, 2003; Lima, 2004).^{37,77,78}

5.1.8- Pesos absolutos de los pollitos recién nacidos

Al nacimiento se pesaron los pollitos sin ninguna estructura extra embrionaria, en una balanza digital[¥] se obtuvieron los pesos absolutos de los mismos y se realizó una comparación entre los dos grupos.

5.2- Pesos relativos de órganos embrionarios

En los experimentos I y IV a partir de los pollitos utilizados para recolectar muestras de sangre, se colectaron corazón hígado, bazo y saco vitelino (experimento I) y bolsa de Fabricio (experimento VI), estos órganos fueron pesados en una balanza digital[¥], fue comparada la ganancia de peso de dichos órganos durante el desarrollo embrionario entre grupos.

[¥] Ohaus de Mexico, S.A. de C.V. Managua No. 697 Desp. 404, México Distrito Federal México. Modelo Scout-Pro®

5.2.1- Evaluación de concentraciones hormonales en sangre

En el experimento III en embriones con 432 horas de incubación después de concluir la transferencia embrionaria a los 18 días de (DE) se seleccionó por medio de ovoscopia una muestra aleatoria de 5 huevos con embriones vivos a partir de cada máquina incubadora. En pollitos recién nacidos de igual manera se obtuvo una muestra aleatoria de cinco pollitos por máquina, inmediatamente después de concluir la medición de los parámetros de calidad.

Se obtuvieron muestras sanguíneas por medio del corte de la vena central del saco vitelino en embriones y por decapitación cervical en pollitos recién nacidos, las cuales fueron colectadas en tubos con heparina, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 1,200 rpm a 4°C durante 10 minutos, el plasma obtenido fue colectado y almacenado a -20°C hasta el momento de realizar la medición (Stojevick, *et al*, 2009).⁷⁹

Las concentraciones de T3 y T4 fueron medidas utilizando un kit comercial para la detección de T3 y T4 libre mediante pruebas de ELISA[†], la sensibilidad fue de 0.25pg/ 50 µl, el coeficiente de variación intra ensayo fue menor al 10% en ambas mediciones.⁷⁹

Las concentraciones plasmáticas de cortisol fueron medidas utilizando una prueba de ELISA estandarizada a partir de muestras plasmáticas provenientes de pollitos provenientes de estirpes ligeras y pesadas, se empleó el anticuerpo R4866, la sensibilidad intra ensayo fue de 0.1pg/50µl el coeficiente de variación fue de 5.44% (Stojevick, *et al* 2009, Munro y Stabenfeldt 1984).^{79,80}

† T3 (Free) EIA. ALPCO Diagnostics. Salem NH USA Cat 25-FT3HU-E1, Lot. RN-36449.
† T4 (Free) EIA. ALPCO Diagnostics. Salem NH USA Cat 25-FT4HU-E01, Lot. RN-35616.
CTR Scientific (Control Técnico y Representaciones Av. Lincoln 3410 Pte. Col. Mitras Nte. Monterrey Nuevo León México.

5.3- Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente aleatorizado, en el cual se realizó un análisis de varianza de un solo factor (GLM) para el peso de los huevos al incubar, peso de los pollitos, pérdida de peso al día 10 DE y 18 DE; cuando hubo diferencia significativa, la diferencia entre medias de grupo se determinó por medio de la técnica de comparación múltiple de medias de Tukey a una significancia estadística de $P < 0.05$. Los datos de los eventos de incubabilidad se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Para determinar las probables diferencias entre los datos se sometieron a un análisis de varianza utilizando un GLM; cuando se detectó diferencia significativa entre tratamientos éstas fueron analizadas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los datos porcentuales de las mortalidades por etapas observadas en el embriodiagnóstico y los obtenidos en la evaluación de calidad del pollito recién nacido se evaluaron por medio del contraste de distribución χ^2 , se determinó para ello una significancia de $P < 0.05$. Los datos porcentuales se transformaron por medio de la raíz cuadrada del arco seno de la proporción.

Se utilizó el programa Statistical Analytical System (SAS) versión 9. (Kuel, 2001; Ducoing, 2010; Daniel, 2009; Gill, 1978).^{81, 82, 83, 84}

El modelo para el diseño completamente aleatorizado (DCA) fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

En donde:

Y_{ij} = Respuesta de la unidad experimental j del tratamiento i

μ = Promedio de las respuestas de todas las unidades experimentales que reciben el tratamiento i .

τ_i = Efecto del tratamiento i .

ε_{ij} = Error o residual j que recibió el tratamiento i .

5.3.1 - Observaciones de interés.

De acuerdo al tipo de análisis estadístico cada máquina incubadora Hova Bator® se consideró como unidad de observación experimental, cada huevo incubable se consideró como una unidad de análisis. Las variables explicativas fueron la condición de los tratamientos ya sea de ventilación limitada en el grupo I, o de ventilación estándar en el grupo II. Las variables de respuesta fueron: El peso del pollito al nacimiento, la longitud del pollito al nacimiento, inicio y duración de la ventana de nacimientos, porcentajes de mortalidad embrionaria y de calidad por tratamiento, conteo y porcentajes de células sanguíneas, pesos relativos de los órganos y concentraciones plasmáticas de T3, T4 y Cortisol.

6.- RESULTADOS

6.1 EXPERIMENTO I (Bovans White, 33 semanas)

La tasa de natalidad promedio fue de 54.75%, no presentó diferencia estadística significativa con relación al 49.20% observado en el grupo estándar.

Se observó diferencia estadística significativa en el porcentaje de mortalidad embrionaria en etapa I, esta fue de 13.39%, en el grupo de ventilación limitada, comparado con el 29.48% del tratamiento de ventilación estándar. (cuadro1). Aunque el porcentaje de mortalidad en las etapas II, III y IV fue mayor en el tratamiento de ventilación estándar no se observó diferencia estadística significativa con relación al grupo de no ventilación (Cuadro 1).

El porcentaje de pérdida de peso al día 10 de desarrollo embrionario fue de $3.29\% \pm 1.06$ para el grupo de ventilación limitada, diferente ($P < 0.05$) al $6.95\% \pm 0.76$ presentado en el grupo de ventilación estándar, sin embargo el grupo I tuvo un peso promedio al día 18 de (DE) de 51.91 ± 2.96 gramos, menor ($P < 0.05$) al 52.82 ± 3.42 gramos observado en el grupo estándar (Cuadro 2).

La ventana de nacimientos inició a las 482 horas en el grupo de ventilación limitada, mientras que en el grupo estándar inicio a las 487 horas. El término de nacimientos en horas en el grupo I fue de 515 ± 5.3 horas menor ($P < 0.05$) que las 524 horas del grupo II, la duración total de la ventana de nacimientos en el grupo I fue de 31.33 ± 2.3 horas menor ($P < 0.05$), comparada con las 37.33 ± 4.1 registradas en el grupo de ventilación estándar (Cuadro 3).

El peso promedio del pollito del grupo de ventilación limitada al nacimiento fue de 40 ± 2.8 g, mayor ($P < 0.05$) a los 38.9 ± 2.6 g observados en el grupo II. Así mismo los pollitos provenientes del grupo I tuvieron una longitud mayor al grupo II, esta fue de 16.58 ± 0.06 cm ($P < 0.05$), en comparación a los 16.30 ± 0.62 del grupo II (Cuadro 4).

El grupo de ventilación limitada tuvo una calidad de pollito excelente de 50.7% diferente ($P < 0.05$) al 47.2% obtenido en el grupo II; en la calidad clasificada como buena se obtuvo un porcentaje mayor en el grupo II, este fue de 44%, diferente ($P < 0.05$) al 36.32% observado en el grupo de ventilación limitada. En las demás categorías no se observaron diferencias estadísticas significativas (Cuadro 4).

La concentración promedio de O_2 al día 10 no mostró diferencias estadísticas significativas entre grupos. La concentración de CO_2 acumulada en el interior de las máquinas de ventilación limitada al día 10 DE fue de $8,892 \pm 3554$ ppm, en el grupo II de ventilación estándar no se detectaron concentraciones de CO_2 significativas por encima de 3,000 ppm en esta fecha.

Se observaron diferencias estadísticas significativas entre grupos en las concentraciones de CO_2 en los días 11, 15, 16 y 17 DE, observando una tendencia a una producción de CO_2 mayor en el grupo II (cuadro 5).

El peso del corazón entre los dos grupos no fue diferente, el peso del hígado en el grupo I fue de 0.91 ± 0.09 g, menor ($P < 0.05$) al 1.01 ± 0.10 g del grupo con ambiente estándar; el peso promedio del saco vitelino de este grupo fue de 6.51 ± 1.17 g y el del grupo I de 6.47 ± 1.36 g, los cuales no difirieron entre sí (Cuadro 6).

6.2- EXPERIMENTO II (Bovans White de 36 semanas).

El grupo de ventilación limitada tuvo una tasa de natalidad del $63.59\% \pm 4.4$, sin diferencia estadística significativa, con relación al $53.23\% \pm 2.6$ que obtuvo el grupo de ventilación estándar (Cuadro 7).

Se observó que el grupo de ventilación limitada tuvo un porcentaje de mortalidad embrionaria en etapa II de 37.34%, cantidad mayor ($P < 0.05$) a la presentada en el grupo II de ventilación estándar, la cual fue de 33.16%, se observó la misma tendencia en la mortalidad embrionaria en la etapa III, en la cual el grupo I presentó un porcentaje del 24.69 %, mayor ($P < 0.05$) al 23.98% presentado en el grupo II (cuadro 7). No se observaron diferencias estadísticas significativas en los demás grupos de mortalidad embrionaria.

El peso promedio del huevo al inicio de la incubación fue del 57g, no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los grupos. El porcentaje de pérdida de peso al día 10 fue de $8.58\% \pm 1.14$ para el grupo I, mientras que para el grupo II fue de $7.70\% \pm 2.46$, sin que se encontraran diferencias estadísticas significativas. El grupo de ventilación limitada tuvo un promedio de pérdida de peso al día 18 de $13.05\% \pm 1.85$ menor ($P < 0.05$) al $14.43\% \pm 3.86$ presentado en el grupo de ventilación estándar (Cuadro 8).

El inicio de la ventana de nacimientos en el grupo I fue a las 498.66 ± 1.15 , mientras que en el grupo II inicio a las 501.33 ± 3.05 horas. No se observaron diferencias estadísticas entre grupos en la duración ni en el término de la ventana de nacimientos (Cuadro 9).

El grupo de ventilación limitada tuvo un porcentaje de 25.22% de pollitos de excelente calidad, mayor ($P < 0.05$) al 20.71% observado en el grupo II. El mismo patrón fue observado en los pollitos calificados como regulares, donde el grupo I de ventilación limitada fue de 19.44% mayor ($P < 0.05$) al 18.03% obtenido en el grupo II, en los pollitos calificados como deficientes, se observó que el grupo I obtuvo un porcentaje de 14.54%, mayor ($P < 0.05$) al 12.15% que fue observado en

el grupo II. En los pollitos clasificados como de buena calidad, en el grupo I, fue de 25.80%, menor ($P<0.05$) al 30.01% observado en el grupo II, de igual manera se observó que en el grupo calificado como inaceptable el grupo I obtuvo un porcentaje promedio del 15%, menor ($P<0.05$) al 19.1% observado en el grupo II (Cuadro10).

Las concentraciones acumuladas de O_2 al día 10 de incubación no presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos. Las concentraciones acumuladas de CO_2 al día 10 de incubación fue de $15,890\pm 4431$ ppm en el tratamiento de ventilación limitada, mayores ($P<0.05$) al tratamiento de ventilación estándar. No se presentaron diferencias estadísticas significativas durante los días subsecuentes (Cuadro11).

6.3- EXPERIMENTO III (Bovans White de 40 semanas).

El porcentaje de incubabilidad en el grupo de ventilación limitada fue de $60.76\%\pm 2.91$ mayor ($P<0.05$) al $40.70\%\pm 2.21$ observado en el grupo II. Se observó una tasa de natalidad el grupo I. de 49.99 ± 3.33 % mayor ($P<0.05$) al $43.33\pm 3.33\%$ obtenidos en el tratamiento de ventilación estándar (Cuadro 12).

El porcentaje de mortalidad en las etapas I y II no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos, la mortalidad embrionaria en la etapa III fue mayor en el grupo I, esta fue de 23.70% mayor ($P<0.05$) al 9.67% observado en el tratamiento II. En este mismo grupo la mortalidad embrionaria en la etapa IV fue de 9.67%, la cual fue mayor ($P<0.05$) al 7.14% observado en el tratamiento de ventilación limitada (Cuadro 12).

El peso promedio del huevo al inicio del experimento fue de 53 gramos. Se observaron diferencias estadísticas significativas en el peso del huevo al día 10 de incubación, este fue de 48.96 ± 2.1 g para el tratamiento I, menor ($P<0.05$) que los 50.48 ± 2.7 gramos que presentó el tratamiento II. El porcentaje de pérdida de peso al día 10 fue de $7.27\%\pm 0.95$ para el grupo I, mayor ($P<0.05$) al $5.91\%\pm 0.81$

presentado en el tratamiento II. El promedio de peso del huevo al día 18 de incubación para el grupo I fue de 47.08 ± 2.41 g, mayor ($P < 0.05$) al 42.21 ± 4.1 g del grupo estándar. No se presentaron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de pérdida de peso entre grupos en esta fecha.

El inicio de la ventana de nacimientos fue a las 491 ± 5.77 horas para el tratamiento I y de 492 ± 5.29 horas para el grupo II sin diferencia estadística, al igual que en el término y duración de la ventana de nacimientos (Cuadro 14). La longitud del pollito al nacimiento en el grupo I fue 16.99 ± 0.49 cm, mayor ($P < 0.05$) a los 16.73 ± 0.40 cm obtenidos en el tratamiento II. Respecto a la calidad del pollito al nacimiento, se obtuvo un mayor porcentaje de pollitos clasificados como de buena calidad en el tratamiento II, siendo este de 40.80%, el tratamiento I obtuvo un 35.37% ($P < 0.05$). Se observó la misma tendencia en los pollitos clasificados como de buena calidad, el tratamiento II presentó un 50.85%, mayor ($P < 0.05$) al 43.01 % obtenido en el grupo I de ventilación limitada. En los pollitos clasificados como de calidad regular el tratamiento I obtuvo un porcentaje de 21.80%, mayor ($P < 0.05$) al 5.68% observado en el tratamiento II. En los pollitos clasificados como de calidad deficiente en el grupo II se obtuvo un porcentaje del 2.85%, en el grupo I no se presentaron pollitos en esta clasificación. No se obtuvieron pollitos clasificados como de calidad deficientes en este experimento (Cuadro 15).

Las concentraciones de O_2 tuvieron diferencias estadísticas al día 17 de incubación, estas fueron de $20.50 \pm 0.3\%$ menor ($P < 0.05$) en el grupo I, mientras que en el grupo II se registró una concentración del $20.26 \pm 0.05\%$. Las concentraciones de CO_2 al día 10 de incubación fueron de $20,380 \pm 497$ ppm en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) a las $1,860.97 \pm 101$ ppm obtenidas en el grupo II. Se observó un aumento gradual en las concentraciones de CO_2 durante la incubación (Cuadro 16).

Las concentraciones plasmáticas de T3 y T4 no fueron detectadas en el plasma proveniente de embriones de 18 días (DE). En pollito recién nacido se detectaron concentraciones en la hormona T3 de 725.55 ± 899 ng/ μ l, menor ($P < 0.05$) a los

2,900±2331 ng/μl detectados en el grupo de ventilación estándar. No se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de la hormona T4. Las concentraciones plasmáticas de cortisol fueron mayores en el tratamiento de ventilación limitada, estas fueron de 119.45±74 ng/μl, mayor (P<0.05) a los 84.43±38 ng/μl registrados en el grupo II de ventilación estándar (Cuadro 17).

6.4- EXPERIMENTO IV (Ross 308 de 52 semanas).

No se presentaron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de fertilidad, tasa de natalidad ni en el porcentaje de incubabilidad entre tratamientos.

Se presentaron diferencias estadísticas significativas en la mortalidad embrionaria en etapa III, esta fue de 7.74% en el grupo I, mayor (P<0.05) al 5.75% observado en el tratamiento de ventilación estándar.

El promedio de peso general del huevo fue de 59 gramos. El peso promedio del huevo al día 10 de incubación fue mayor en el tratamiento de ventilación estándar, este fue de 56.23±2.9g comparado a los 54.62±2.9g presentado en el tratamiento de ventilación estándar (P<0.05) (Cuadro 19).

El peso promedio del huevo del grupo I al día 18 fue de 51.91±2.9 gramos, menor (P<0.05) a los 52.83±2.4 gramos presentados en el tratamiento II. El porcentaje de pérdida de peso al día 18 fue de 12.63±2.5% en el tratamiento de ventilación limitada, mayor (P<0.05) al 10.92±3.3% observados en el grupo de ventilación estándar.

Se observaron diferencias estadísticas significativas en el inicio de la ventana de nacimientos, esta fue de 480±5.7 horas en el grupo I, menor (P<0.05) a las 489±2.0 presentadas en el grupo II. No se presentaron diferencias estadísticas significativas en el término, ni en la duración de la ventana de nacimientos entre ambos grupos (Cuadro 20).

El peso del pollito al nacimiento en el grupo I fue mayor este fue de 41.93 ± 2.4 gramos, comparado con los 40.16 ± 2.9 gramos obtenidos en el grupo II ($P < 0.05$). De igual forma la longitud del pollito al nacimiento presento el mismo comportamiento, el grupo I presento un promedio de 17.11 ± 0.5 Cm, mayor ($P < 0.05$) al 16.81 ± 0.71 cm presentados en el grupo II (Cuadro 21).

Se presentó un porcentaje elevado de pollitos clasificados como de primera calidad en el grupo I, el cual fue del $65.99 \pm 19.99\%$, mayor ($P < 0.05$) al $60.1 \pm 8.24\%$ obtenido en el grupo II, Se presentó el mismo patrón en los pollitos clasificados como de buena calidad, el grupo I presento un porcentaje de $31.30 \pm 18.64\%$, mayor ($P < 0.05\%$) al $30.16 \pm 8.2\%$ presentado en el grupo II. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos en los pollitos clasificados como regulares, deficientes e inaceptables (Cuadro 21).

La concentración de O_2 al día 10 de incubación no presento diferencias estadísticas entre grupos. Las concentraciones de CO_2 al día 10 (DE) fueron de $21,697 \pm 49.24$ ppm, en el tratamiento de ventilación limitada, mayor ($P < 0.05\%$) a las $2,001.25 \pm 347$ ppm observadas en el tratamiento de ventilación estándar. Se observo un incremento gradual en las concentraciones de CO_2 a partir del día 12 hasta al final del periodo de incubación, sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas entre ambos (Cuadro 21).

No se presentaron diferencias estadísticas en los valores hematológicos de los embriones de 18 días de desarrollo embrionario, únicamente se presentaron diferencias estadísticas significativas en los valores de hematocrito, el cual fue de 0.23 ± 0.02 L/L, mayor ($P < 0.05$) al 0.09 ± 0.3 L/L del tratamiento de ventilación estándar; el porcentaje de heterófilos en sangre fue de $41.1 \pm 1\%$ en el grupo I, menor ($P < 0.05$) al $48.50 \pm 6.8\%$ observado en el tratamiento II. El porcentaje de linfocitos fue mayor en el grupo de ventilación limitada, este fue de $24.83 \pm 11.31\%$, mayor ($P < 0.05$) al $14.91 \pm 5\%$ presentado en el grupo estándar. El porcentaje de monocitos en el grupo I fue de $17.91 \pm 7.12\%$, mayor ($P < 0.05$) al $16.66 \pm 4.9\%$ determinados en el grupo II (Cuadro 23).

No se presentaron diferencias estadísticas significativas en los valores de hematocrito, proteínas totales, conteo de eritrocitos y leucocitos en pollitos recién nacidos por tratamientos. Sin embargo, el porcentaje de heterófilos fue de $57.32 \pm 6.52\%$ para el grupo I, menor ($P < 0.05$) al $68.48 \pm 9.92\%$ presentado en el grupo II, se presentó un porcentaje de monocitos de 24.25 ± 7.69 en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) al 17.16 ± 6.93 presentado en el grupo II, no se presentaron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de basófilos, eosinófilos y linfocitos entre ambos grupos (Cuadro 23). No se presentaron diferencias estadísticas significativas en los pesos de corazón, hígado, bazo y bolsa de Fabricio entre ambos grupos (Cuadro 24).

6.5- EXPERIMENTO V (Bovans White de 36 semanas).

El porcentaje de incubabilidad fue de 55.74% para el grupo I, mayor al 52.66% observado en el grupo de ventilación estándar ($P < 0.05$) (Cuadro 25).

El porcentaje de embriones muertos en etapa I fue de 12.43% , mayor en el grupo de ventilación limitada, comparado con el 12.09% observado en el grupo II ($P < 0.05$).

Se observó la misma tendencia en la mortalidad embrionaria en etapa II en donde el grupo de ventilación limitada presentó un porcentaje del 13.20% , mayor ($P < 0.05$) al 11.67% observado en el grupo estándar. La mortalidad embrionaria en Etapa III fue de 5.87% para el grupo I, menor ($P < 0.05$) al 10.82% presentado en el grupo estándar. La mortalidad embrionaria en etapa IV no presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 25).

El peso promedio de huevo al día 10 de incubación no tuvo diferencias estadísticas significativas entre grupos, este fue de 53.8 gramos. El porcentaje de pérdida de peso de huevo al día 10 fue menor en el grupo I, este fue de $4.45 \pm 1.43\%$, menor ($P < 0.05$) al $5.79 \pm 1.20\%$ observado en el grupo II (Cuadro 26).

El peso del huevo al día 18 no mostró diferencia estadística entre grupos, este fue de 50.56 ± 1.63 g, para el grupo I y de 50.60 ± 1.83 g, en el grupo II. El porcentaje de pérdida de peso fue de 10.55% para el grupo I y de 11.36% para el grupo II, sin que se observaran diferencias estadísticas. El promedio de temperatura del día 1 al 18 en el tratamiento de ventilación limitada fue de 37.55 ± 0.25 °C y de 37.57 °C para el grupo II, mientras que la temperatura promedio de los días 19 al 21 fue de 36.99 ± 0.22 °C en el grupo I y de 36.86 ± 0.37 °C, sin que se observaran diferencias estadísticas entre grupos (Cuadro 26).

No se presentó diferencia estadística en el inicio de la ventana de nacimientos, está inicio a las 493 horas de incubación en ambos grupos. Se observó el mismo comportamiento para el término en horas de la ventana de nacimientos, finalizando a las 530 horas en el grupo I de ventilación limitada y a las 529 horas de incubación para el grupo II. La duración de la ventana de nacimientos entre grupos tampoco presentó diferencias estadísticas significativas, el grupo I tuvo una duración de 37 horas, mientras que el grupo II tuvo una duración de 36.25 horas (Cuadro 27).

El peso del pollito al nacimiento fue de 39.83g para el grupo I y de 36.67 g para el grupo II sin que se presentaran diferencias estadísticas entre ambos grupos. La longitud del pollito al nacimiento fue de 16.65 ± 0.33 cm. mayor en el grupo de ventilación limitada ($P < 0.05$), mientras que en el grupo de ventilación estándar fue de 16.54 ± 0.33 cm (Cuadro 28).

No se presentaron pollitos con excelente calidad en este experimento. Se obtuvo un porcentaje de pollitos de buena calidad de 30.20 ± 9.23 % en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) al $21.78\% \pm 14.88$ presentado en el tratamiento II. Del mismo modo la cantidad de pollitos clasificados como regulares fue del 50 ± 13.60 % para el grupo I y de 37.29 ± 19.42 % para el grupo II. El porcentaje de pollitos clasificados como deficientes fue de 19.79 ± 15.22 % para el grupo I, menor ($P < 0.05$) al 36.90 ± 15.74 % del grupo II. No se obtuvieron pollitos clasificados como de calidad inaceptable en este experimento (Cuadro 28).

Las concentraciones promedio de O₂ al día 10 de incubación fueron de 19.05±0.13% para el tratamiento de ventilación limitada y de 19.60±0.14% en el tratamiento de ventilación estándar. Sin que se observaran diferencias entre grupos.

Las concentraciones acumuladas de CO₂ al día 10 fue de 12,007±14.36% ppm para el grupo I y de 1,981.67±414.33ppm para el grupo II. Se observó un aumento gradual de las concentraciones de CO₂ a partir del día 11 y hasta el final del periodo de incubación, en donde se registro una tendencia a generar mayores concentraciones de CO₂ en el grupo I de ventilación limitada, las cuales presentaron diferencias estadísticas significativas comparadas con el grupo II de ventilación estándar (Cuadro 29).

6.6- EXPERIMENTO VI (Ross 308, 37 semanas)

La tasa de natalidad promedio fue de 57.95±9.33% para el grupo de ventilación limitada, mayor (P<0.05) al 53.18±10.01% observado en el tratamiento de ventilación estándar. El porcentaje de incubabilidad fue de 66.93±12.26% en el grupo I, mientras que en el grupo II fue de 56.71±10.19% (P<0.05).

Se observó un menor número de embriones muertos durante la etapa I de incubación en el grupo I, el cual registro un 16.32%, comparado con el 17.62% obtenido en el grupo II en la misma etapa (P<0.05). Se observó el mismo patrón de comportamiento en los embriones muertos en etapa II, en la que el grupo I obtuvo un porcentaje de 9.33%, menor (P<0.05) al 17.09% observado en el grupo control. La misma tendencia fue observada en los embriones muertos en etapa II, en donde se registro un porcentaje del 7.43% en el grupo I, menor (P<0.05) al (17.35%) observado en el grupo II. No se presentó mortalidad embrionaria en la etapa IV en el grupo I, mientras que en el grupo II fue de 1.20% (P<0.05) (Cuadro 30).

El peso inicial del huevo no presento diferencias estadísticas significativas entre grupos, el cual tuvo un promedio general de 61.68 gramos. El peso promedio del huevo al día 10 no presento diferencias estadísticas significativas, este fue en promedio de 58 gramos. Se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en el porcentaje de pérdida de peso al día 10 de incubación, este fue menor en el grupo de ventilación limitada con un $5.57 \pm 1.40\%$ comparado con el $6.29 \pm 1.29\%$ registrado en el grupo II. El porcentaje de pérdida de peso al día 18 de incubación fue menor en el tratamiento de ventilación limitada, este fue de $10.56 \pm 1.97\%$, menor ($P < 0.05$) al $11.45 \pm 2.13\%$ registrado en el grupo estándar. No se observaron diferencias estadísticas entre grupos en el peso promedio al día 18 de incubación ni en los promedios de temperaturas de los días 1 al 18, ni del día 18 al 21 entre tratamientos (Cuadro 31).

El inicio de la ventana de nacimiento en el grupo I fue a las 492 horas, mientras que en el grupo II ocurrió a las 503.5 ± 9.84 horas ($P < 0.05$). El término de la ventana de nacimientos en el grupo I se presentó a las 541 ± 8.71 en el grupo I, mientras que en el grupo II fue a las 544.5 ± 4.43 horas sin que se observaran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Así mismo no se observaron diferencias estadísticas en la duración total de la ventana de nacimientos entre grupos (Cuadro 32).

El peso promedio del pollito al nacimiento fue de 43.41 ± 1.84 gramos en el tratamiento I, mayor ($P < 0.05$) al 41.51 ± 1.58 gramos observado en el grupo II. Así mismo la longitud de los pollitos fue de 17.48 ± 0.96 cm en el grupo I y de 17.20 ± 0.60 cm en el grupo II, sin que se observaran diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 33).

No se presentaron pollitos clasificados como de excelente calidad en este experimento. No se observaron diferencias entre grupos en pollitos recién nacidos clasificados como de buena calidad. El porcentaje de pollitos clasificados como de calidad regular fue mayor en el grupo I, este fue de $47.89 \pm 13.71\%$, comparado con el $20.83 \pm 14.43\%$ observado en el grupo II ($P < 0.05$).

Respecto a los pollitos clasificados como deficientes se observo un menor porcentaje en el grupo I, este fue de $20.63 \pm 13.89\%$, comparado con el $48.61 \pm 17.89\%$ obtenido en el grupo II. Se observo la misma tendencia en el porcentaje de pollitos clasificados como de calidad inaceptable, en la cual el grupo I obtuvo un porcentaje del $2.50 \pm 50\%$ comparado con el $6.25 \pm 7.21\%$ obtenido en el grupo II aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas entre grupos (Cuadro 33).

Al igual que en el experimento V, se observo un aumento progresivo en las concentraciones de CO_2 a partir de día 11 hasta el final del experimento, observándose diferencias estadísticas entre grupos únicamente en los días 13 con $2,615.83 \pm 243.02$ ppm en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) a $2,345.83 \pm 87$ ppm registradas en el grupo II, al día 14 con $3,447.50 \pm 313.08$ ppm en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) a los $3,164.17 \pm 212.23$ ppm registradas en el grupo II y al día 21 con $3,490 \pm 267.61$ ppm en el grupo I, mayor ($P < 0.05$) a los $2,934.44 \pm 207.19$ ppm registradas en el grupo estándar.

7.0 DISCUSIÓN

Las investigaciones realizadas por diversos autores muestran manejos diferentes en cuanto a las concentraciones de CO₂ empleadas, por ejemplo, De Smit *et al* (2006)¹⁹ reportó en sus estudios concentraciones de 15,000 ppm al día 10 (DE),¹⁹ Boerjan *et al* (2010)⁸⁵ publicó que en un rango de 8,000 a 10,000 ppm al día 10 (DE) es el rango ideal para mejorar las condiciones de los pollitos recién nacidos. Sin embargo, en el presente estudio las modificaciones realizadas en las máquinas incubadoras por medio del sellado del dámper y los orificios de exhausto durante los primeros cuatro experimentos favoreció que se acumulara al interior de las máquinas una alta concentración de CO₂ endógeno, estas concentraciones fueron superiores a las recomendadas por los autores anteriormente citados, en el experimento III, se alcanzaron 21,697ppm de CO₂ al día 10 de (DE). Estas concentraciones altas de CO₂ tuvieron como resultado diversos efectos en el desarrollo y los parámetros de incubación presentados en los pollitos recién nacidos. (De Smit *et al*, 2006)¹⁹

El porcentaje de incubabilidad fue afectado positivamente por las altas concentraciones de CO₂ en todos los experimentos, sin embargo; a pesar de ello se lograron mejores resultados en los grupos experimentales a los que se aplicó el tratamiento de ventilación limitada, en cinco de seis experimentos se observaron porcentajes de incubabilidad superiores respecto al tratamiento estándar, la mayor diferencia en porcentaje fue observada en el experimento VI, en el que con una concentración de 8,780 ppm de CO₂ se obtuvo el mejor resultado en el experimento de ventilación limitada, el porcentaje de incubabilidad fue el menor en el experimento IV, donde se alcanzó una concentración de CO₂ de 21,607ppm, este experimento presentó la mayor concentración de CO₂ en todo el estudio, en los demás experimentos se alcanzaron porcentajes de incubabilidad superiores en todos aquellos tratamientos que tuvieron ventilación limitada, por lo tanto se observa una tendencia a existir un mayor porcentaje, en altas concentraciones de CO₂, esto coincide con los trabajos realizados por De Smit *et al*, (2006)²⁴ quienes obtuvieron en sus experimentos porcentajes de incubabilidad de 89.25% en el

experimento I y con Tona, *et al* (2005)⁵⁸ quien obtuvo un porcentaje del 70%, es importante mencionar que a pesar de que los autores citados tuvieron porcentajes mayores a todos los presentes en este estudio, se debe tomar en cuenta el lugar en el que fue realizado al trabajo, ya que este fue realizado a una menor altitud en comparación con la de la ciudad de México, donde la incubación se realizó a una altitud de 2,220 m.s.n.m, lo que representa una desventaja para lograr condiciones óptimas de incubación. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con las observaciones obtenidas por López *et al* (2011)⁸⁶ quienes obtuvieron mejores parámetros de incubación, bajo las mismas condiciones de altitud, además mencionan que el uso de ventilación limitada durante la primera etapa de incubación favorece la incubabilidad y el desarrollo embrionario a altitudes elevadas. Aunque también es probable que la incubabilidad dependa más de diferencias en el genotipo de las aves reproductoras utilizadas (De Smit *et al*, 2008)⁴³ y en la edad de las aves reproductoras (De Smit *et al*, 2006)¹⁹ que en los niveles de CO₂ empleados durante esta etapa de la incubación (Tona *et al*, 2007; Willemsen *et al*, 2008),^{19,53,92} indicando en todo caso que estas dos variables (genotipo y edad) afectan directamente la tasa metabólica del embrión y por lo tanto su respuesta a niveles crecientes de CO₂ durante la incubación temprana, algo que se encuentra estrechamente relacionado con los hallazgos efectuados por De Smit *et al* (2008)⁴³, donde al comparar una estirpe con baja predisposición a la ascitis (Cobb) con una estirpe de alta predisposición a la misma (SAS), determinaron que el grupo NV de la estirpe Cobb con un incremento de 0.7% de CO₂ al día 10 DE mostró una incubabilidad de 92% sin diferir con el grupo V, mientras que el grupo NV de la estirpe SAS presentó una incubabilidad de 88.0%, diferente al 76.84% del grupo V de la misma estirpe; en otro estudio efectuado por Bahadoran *et al* (2010)⁸⁹ con la misma estirpe (Ross) determinaron que el efecto de hipoxia prenatal temprana (primeros 10 DE), inducida al incubar a grandes altitudes (1,800 m.s.n.m.) fue benéfica, ya que al analizar el comportamiento de estos embriones incubados a una gran altitud con respecto a otros incubados a baja altitud (nivel del mar), determinaron que la función endocrina de los embriones se modifica (cortisosterona, T3 y T4), aumenta el

tamaño embrionario, se acorta la ventana de nacimientos y la mortalidad por ascitis en los pollos nacidos de estos embriones y criados a gran altitud (2,100 m.s.n.m.) disminuyó significativamente con relación a los embriones incubados a baja altitud y criados junto con ellos a esta misma gran altitud.

La mortalidad embrionaria en este estudio se relaciona con las altas concentraciones de CO₂. En la mayoría de los experimentos la mortalidad embrionaria en etapa I fue mayor en el grupo estándar, en el experimento VI fue mayor en el tratamiento de ventilación limitada, en el primer experimento, se observó una mortalidad embrionaria temprana mucho mayor en comparación de los otros experimentos realizados en este estudio, sin embargo a pesar de que las concentraciones de CO₂ al día 10 (DE) se presentaron dentro de los rangos propuestos por otros autores, no se pueden descartar factores extrínsecos al experimento o a las condiciones de incubación, tales como las condiciones de almacenaje del huevo fértil, el manejo previo a la incubación y condiciones de transporte (Willemsem *et al*, 2008; López *et al*, 2011).^{53,86} La mortalidad embrionaria en etapa II no fue elevada, debido a que probablemente en este periodo de desarrollo (día 8 al 17 DE), el embrión es menos sensible a las concentraciones de CO₂ al interior de la incubadora debido a que la membrana corioalantoidea es más eficiente para realizar el intercambio gaseoso del embrión, por lo tanto es mucho más tolerante a las concentraciones elevadas de CO₂ (Smith *et al*, 2006; Onagbesan *et al*, 2007)^{13,19}

Sin embargo, el efecto de estas concentraciones elevadas de CO₂ por encima de las 10,000 ppm se reflejaron en algunos efectos negativos hacia los embriones y pollitos recién nacidos, sobre todo aquellos relacionados con la mortalidad embrionaria en etapa III, la cual se registro en 3 experimentos los que tuvieron las mayores concentraciones elevadas de CO₂, debido principalmente a embriones que al momento de realizar el embriodiagnóstico presentaron mala posición al interior del cascarón así como zonas hemorrágicas extendidas en todo el cuerpo del embrión (Chan y Burggren, 2005).³⁷

En los primeros tres experimentos, se observó una elevada proporción de mortalidad embrionaria en etapa IV ocasionada por malas posiciones que dieron como resultado una incapacidad para romper la cámara de aire y el cascarón. Es importante mencionar que la mortalidad en esta etapa coincidió en todos los experimentos en donde las concentraciones de CO₂ fueron excesivamente elevadas, superando los límites de tolerancia embrionaria sugeridos por diversos autores (López *et al*, 2011; Boerjan, 2010; Smith *et al* 2008).^{43, 85, 86}

Los resultados durante los últimos tres experimentos una vez ajustadas las condiciones de sellado para lograr condiciones adecuadas de CO₂ al interior de las incubadoras, se observó que el porcentaje de mortalidad embrionaria en etapa IV fue menor en comparación del obtenido en los primeros estudios, esto fue debido a que se alcanzaron concentraciones similares a las recomendadas en trabajos anteriores, al alcanzar esos niveles de CO₂, los resultados obtenidos en este trabajo fueron similares a las investigaciones realizadas por Bruggeman, *et al* (2007) y López *et al* (2011), en donde se observó disminución de la mortalidad embrionaria en la etapa IV, que es atribuida a la disminución de embriones que presentan malas posiciones y por consiguiente los nacimientos son más eficientes Bruggeman, *et al* (2007) ;López *et al* (2011).^{42,86}

El incremento en las concentraciones de CO₂ durante la primera etapa de la incubación afectó el peso de los pollitos al nacimiento, este fue mayor en los grupos a los que se aplicó el tratamiento de ventilación limitada, en cuatro de los seis experimentos realizados. Esto coincide con lo observado en los trabajos realizados por De Smit *et al* (2006); quienes encontraron que los embriones sometidos a condiciones de hipoxia durante los primeros diez días de incubación con concentraciones aproximadas de 15,000 ppm mostraron un peso al nacimiento mayor al grupo de ventilación estándar. Por otra parte en el experimento III y IV del presente estudio se observaron pesos menores en el tratamiento de ventilación limitada, la causa más probable pudo ser el exceso en las concentraciones de CO₂ acumuladas al interior de la incubadora del día 10 del desarrollo embrionario, las cuales fueron de 20,380 ppm y de 21,697 ppm

respectivamente, cantidades superiores a lo obtenido por Boerjan *et al* (2010)⁸⁵; quienes mencionan que las concentraciones ideales para la incubación empleando un tratamiento de ventilación limitada son tan son de 8,000 a 12, 000 ppm en la primera etapa de desarrollo embrionario, lo cual explica la razón por la cual en estos experimentos se pudo haber afectado de forma negativa el desarrollo embrionario. Sin embargo, aun no se determino exactamente bajo que condiciones del lote de huevo (conductancia del cascarón o edad de las reproductoras) es mas recomendable utilizar 0.8 0 1.2 % de CO₂ en la incubación durante los primeros 10 días de DE (De Smit *et al*, 2006; Tona *et al*, 2001).^{19, 74}

Tona *et al* (2006)⁷⁴ mencionan que el peso del pollito al nacimiento se encuentra influido por el saco vitelino residual, ya que de acuerdo al volumen y peso del mismo, este tendrá influencia sobre el peso total del mismo, sin embargo, en el presente estudio, de acuerdo con los resultados obtenidos para el peso del saco vitelino en embriones de 18 días de desarrollo embrionario y en pollitos recién nacidos no se observaron diferencias estadísticas en los grupos de VL y VE, lo cual en el caso de este estudio determina que el peso del saco vitelino residual no tiene influencia sobre el peso del pollito al nacimiento. Sin embargo, de acuerdo con los estudios realizados por Tona *et al*, (2003); Wolansky *et al*, (2007); Willemsen *et al*, (2008)^{6,53,55,65} el peso del pollito al nacimiento también se relaciona con el peso del huevo al momento de iniciar la incubación y con la edad de las aves reproductoras. En este estudio se emplearon aves jóvenes, en donde el rango de edad fue de 33 a 52 semanas de edad, en estos estudios el peso del pollito al nacimiento fue menor al descrito por De Smit *et al* (2006),¹⁹ sin embargo, es importante mencionar que se puede corroborar que el peso del pollito al nacimiento fue mucho menor en el tratamiento de ventilación estándar , los pesos obtenidos en los resultados de los estudios realizados en el presente trabajo de investigación son menores debido a que se emplearon estirpes de aves ligeras que tuvieron desde el principio pesos mucho menores a los empleados en el estudio realizado por De Smit *et al* (2006)¹⁹, tanto en estirpes de aves ligeras como en el huevo incubable proveniente de aves reproductoras pesadas, por lo

tanto sería interesante comparar los resultados obtenidos con huevo incubable proveniente de aves reproductoras de mayor edad, ya que de acuerdo con lo mencionado por Vázquez *et al* (2006)⁷ al realizar sus experimentos con huevo proveniente de aves con un rango de edad de las 30 hasta las 53 semanas de edad concluye que conforme aumenta la edad de las reproductoras el tamaño del huevo tiende a incrementarse, sin embargo, en este estudio no se observó que el huevo fértil proveniente de aves reproductoras ligeras de 33 semanas presentaron un peso mayor (60.06 ± 3 gramos) con respecto al proveniente de aves de 40 semanas, el cual fue en promedio de 53.58 ± 2.58 gramos, aunque es importante considerar que el huevo era proveniente de diferentes granjas al momento de realizar este estudio (Vázquez *et al*, 2006; De Smit *et al*, 2006).^{7,19}

De manera independiente a la edad de las aves reproductoras, en este estudio el peso del pollito al nacimiento fue afectado por las concentraciones de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario, ya que esta medición fue mayor en el tratamiento de ventilación limitada en todos los experimentos realizados en este trabajo de investigación, lo cual tiene una gran relevancia, ya que de acuerdo con los estudios de calidad y desarrollo del pollito al nacimiento efectuados por Tona *et al* (2003)⁴⁵ mencionan que existe una correlación positiva entre el peso de la canal de los pollitos a los 14 días de edad con el peso del pollo a los 49 días de vida productiva.

Los resultados obtenidos en este estudio presentan un valor relevante, ya que se muestra que aplicando un tratamiento de ventilación limitada en los huevos incubables, se obtienen pollitos más pesados al nacimiento y a los 49 días de vida productiva, en comparación con aquellos incubados bajo condiciones ambientales estándar.

La longitud al igual que el peso del pollito al nacimiento, se relaciona con la edad de las aves reproductoras que dieron origen al huevo incubable, sin embargo, es importante señalar que la estirpe que da origen al mismo huevo es determinante, ya que de acuerdo a la misma se obtendrá una mayor o menor longitud, en este

estudio se observó una longitud mayor en los pollitos provenientes de estirpes pesadas; Los resultados coinciden con lo descrito por Willemsen *et al* (2008)⁵³ quienes obtuvieron una mayor longitud en pollitos provenientes de estirpes pesadas y además mencionan que la longitud del pollito depende de la estirpe de ave a incubar ya que de acuerdo a cada estirpe incubada se obtendrá una mayor o menor longitud del pollito al nacimiento.

En este estudio se observó que aplicando el tratamiento de ventilación limitada los pollitos provenientes de reproductoras ligeras (Bovans White) y reproductoras pesadas (Ross 308) la longitud al nacimiento es mayor, independiente a si el huevo incubable era proveniente de diferentes estirpes de aves reproductoras y de distintos lugares del país, esto indica que independientemente de la estirpe incubada las concentraciones de CO₂ elevadas durante la primera etapa de incubación muestran un efecto positivo sobre la longitud del pollito al nacimiento independientemente de la estirpe y edad de las aves reproductoras que dieron origen al huevo incubable. Wolansky *et al* (2008),⁷⁶ menciona que la longitud del pollito al día de edad tiene un mayor valor predictivo sobre el rendimiento al día 49 del pollo de engorda que incluso el peso del pollito al día de edad.

La duración y el inicio de los nacimientos son parámetros de gran importancia, ya que se relacionan con un adecuado aprovechamiento de nutrientes por parte de los pollitos recién nacidos y además porque su duración se encuentra relacionada con las características de calidad al nacimiento López *et al* (2009).⁵⁶ En esta investigación se detectó que el inicio de la ventana de nacimientos en el tratamiento de ventilación limitada fue más corto en comparación con el tratamiento de ventilación estándar, esta tendencia se observó en todos los experimentos, aunque solo se observó diferencia estadística en el experimento IV donde el inicio de la ventana de nacimientos fue de 480 horas en comparación con las 489 que presentó el grupo estándar y en el experimento VI, que registró un inicio de la ventana de nacimientos a las 492 horas, comparada con las 503 horas en las que iniciaron los nacimientos en el grupo estándar. Los resultados del experimento IV coinciden con las observaciones realizadas por De Smit *et al*

(2006)¹⁹ quien registro un inicio de ventana de nacimientos de 480 horas en empleando huevo proveniente de aves reproductoras pesadas de 45 semanas de edad, sin embargo, en su primer experimento registró un inicio de ventana de nacimientos a las 484 horas de incubación, en ambos experimentos observó quince horas de diferencia entre el inicio de la ventana de nacimientos del grupo de ventilación limitada en comparación con el grupo estándar. A pesar de que el inicio en horas de la ventana de nacimientos en este estudio fue similar al inicio de la ventana registrada por De Smit *et al* (2006) ,¹⁹ se pudo constatar que aplicando un estado de hipercapnia en los primeros 10 días de (DE) la ventana de nacimientos inicia en un menor tiempo en comparación con las condiciones de incubación estándar.

El tiempo y duración de la ventana de nacimientos se encuentra relacionado con la calidad del pollito al nacimiento, ya que de acuerdo a las condiciones ambientales de incubación, se puede optimizar y reducir la duración de la misma, esto hace que sea más factible la obtención de pollitos con una mejor calidad al nacimiento, ya que una adecuada temperatura, humedad relativa y niveles adecuados de oxígeno la favorecen, debido a que los pollitos al nacimiento disminuyen el gasto de energía y esfuerzo necesario para lograr la eclosión, así mismo, al tener una ventana de nacimientos más reducida se disminuye la cantidad de pollitos deshidratados y se evita la pérdida de peso y calidad del pollito debida a esta condición (López *et al* 2009; Wolansky *et al* 2006).^{56, 65}

Se observó que en tres de seis experimentos el porcentaje de pollitos clasificados como de excelente calidad fue mayor en el tratamiento de ventilación limitada con diferencias estadísticas, en comparación con los que recibieron condiciones de incubación estándar, esto se encuentra relacionado con el inicio y la duración de la ventana de nacimientos, por otra parte los porcentajes de pollitos clasificados como de “buena calidad” fue mayor en los grupos de incubación con tratamiento estándar, sin embargo, esta tendencia pudo ser ocasionada debido a que la proporción de pollitos clasificados como de “excelente calidad” fue mucho mayor en los tratamientos de ventilación limitada. Esta misma tendencia fue observada

en los pollitos clasificados como de calidad regular, donde en tres de seis experimentos se pudo constatar que existió un porcentaje significativamente mayor en los pollitos provenientes de los tratamientos de ventilación limitada.

Los pollitos recién nacidos que fueron clasificados como de calidad deficiente e inaceptable en el tratamiento de ventilación limitada en todos los experimentos el porcentaje de pollitos fue menor en comparación con el grupo testigo, inclusive en tres de seis experimentos no se presentó ningún pollito con esta clasificación (en el tratamiento de ventilación limitada). La calidad de los pollitos al nacimiento se encuentra influenciada por las concentraciones de CO₂ endógeno durante los primeros diez días de desarrollo embrionario ya que en este trabajo se observó que aunque las concentraciones de este gas fueron mucho más elevadas en los primeros cuatro experimentos, no se afectó la calidad de los pollitos al nacimiento, ya que en los experimentos V y VI a pesar de que las concentraciones de CO₂ al día 10 (DE) fueron similares a las condiciones descritas por De Smit *et al* (2006)¹⁹ y se encontraron en los rangos recomendados por Boerjan *et al* (2010)⁸⁵ no se presentaron diferencias estadísticas en los pollitos nacidos clasificados como de excelente calidad, se observó inclusive un porcentaje mayor de pollitos clasificados con calidad regular y deficiente (Experimento VI). Por lo tanto la ventilación limitada favorece el porcentaje de pollitos clasificados como de excelente calidad y disminuye el porcentaje de pollitos clasificados como deficientes e inaceptables, esto debido a que la calidad del pollito al nacimiento se encuentra relacionada con la duración de la ventana de nacimientos.

El inicio y la duración de la ventana de nacimientos son influenciadas por las concentraciones ambientales de CO₂ durante el proceso de incubación, esto debido a que el embrión previo a la ruptura de la membrana corio alantoidea al tener un estado de hipoxia transitoria presenta un cuadro de estrés, este evento favorece la producción de las hormonas T3, T4 y de cortisol plasmáticos tanto en embriones como en pollitos al momento de realizar el picaje interno (Smith *et al*, 2006; Stojević *et al*, 2000; Tona *et al*, 2004).^{19,79,80}

El intercambio de O₂ y CO₂ aunado a un adecuado balance entre estas hormonas es muy importante para el adecuado desarrollo embrionario, ya que tienen efectos notables sobre el embrión que inclusive pueden afectar su supervivencia y desempeño productivo. En los estudios realizados por Tona *et al* (2003)⁶⁸ mencionan que el almacenaje del huevo incubable previo a la incubación puede tener efectos sobre la producción de estas hormonas, ya que a medida de que aumenta el tiempo de almacenaje, existe una disminución en la producción de T3, T4 y cortisol, afectando la ventana de nacimientos y la calidad del pollito recién nacido. Esto debido a que al finalizar el periodo de incubación y al inicio de la respiración pulmonar la función de T3 de mucha importancia, ya que esta hormona es la encargada de regular el consumo de oxígeno por parte del embrión y en pollos recién nacidos, llegando a su máxima concentración a los dos días de edad (Stojevic *et al*, 2000).⁸⁰

De Smit *et al* (2006, 2008)¹⁹ al utilizar la ventilación limitada para verificar el DE, encontró que los embriones del grupo experimental provenientes de tratamientos con aumento gradual de CO₂ mostraban niveles significativos en la proporción de T3/T4 en el plasma, lo que indica aparentemente un aumento en la tasa metabólica del embrión atribuida principalmente a un mecanismo epigenético aún no determinado (Vaiserman, 2008)⁸⁷, aunque Bahadoran *et al* (2010)⁸⁸ atribuye este incremento en la proporción de T3/T4 a un mecanismo de disparo fisiológico debido a un incremento previo de corticosterona, la cual es requerida para la conversión periférica de T3 a partir de T4, lo cual induce un aumento de triyodotironina; el incremento de corticosterona se dispara presumiblemente debido al estrés inducido por el aumento de la presión de CO₂ interna y a la caída de la presión de O₂ en la cámara de aire (hipoxia a los 12-14 DE) atribuida principalmente a este tipo de ventilación, aunque también existe la posibilidad de una activación en el sistema de retroalimentación positiva del hipotálamo, la glándula hipofisaria y una mayor respuesta de la glándula tiroides concomitante con un mayor desarrollo y actividad de la corteza adrenal con la finalidad de producir a su vez un mayor nivel de corticosterona en plasma (Smit *et al*, 2008)¹⁹,

la cual a su vez prioriza en determinado momento del DE la vía de la gluconeogénesis y como consecuencia un aumento de aminoácidos secundarios en plasma, los cuales se pueden transformar en glucógeno y a partir de este carbohidrato sintetizar glucosa, o bien de acuerdo a lo descrito por Moran (2007)⁹⁰ favorecer al término de la función de la MCA y principio de la respiración pulmonar y la glucólisis. (Smit *et al* 2006, Tona *et al* 2007)^{19,91} determinaron que una probable significancia en la proporcionalidad de los niveles de T3 sobre T4, indicarían una mayor actividad de la glándula tiroides, estas hormonas de forma general contribuyen a aumentar la glucólisis y la captación de glucosa por parte de las células, además T3 influye en la oxidación de ácidos grasos de cadena corta en el interior de la célula y aumenta gradualmente el metabolismo basal en el embrión, indicando posiblemente que un aumento de la presión de CO₂ optimiza un mejor aprovechamiento del O₂ disponible sobre todo en una etapa temprana del DE.

En este estudio las concentraciones plasmáticas de T3 y T4 no presentaron diferencias estadísticas significativas en pollitos recién nacidos, aunque estas fueron más elevadas en los tratamientos de ventilación estándar, únicamente se observaron diferencias estadísticas significativas en la concentración de cortisol plasmático, el cual fue estadísticamente mayor en el tratamiento de ventilación limitada; Los resultados de este estudio se contraponen con los resultados descritos por De Smit *et al* (2006)¹⁹ quienes detectaron una concentración de cortisol mas elevada al momento del picaje interno comparada con las detectadas en los pollitos al momento del nacimiento.

Sin embargo, en el caso de los embriones de 18 días de (DE) dichas concentraciones no se pudieron detectar, a pesar de que se ha comprobado que existen niveles de T3 y T4 circulantes en embriones de 18 días de desarrollo embrionario, (Stojevic *et al* 2009)⁷⁹ esto probablemente se debe en parte al método de detección empleado, ya que a diferencia de las técnicas empleadas por los autores citados anteriormente la prueba de ELISA estandarizada es menos

sensible que el uso de RIA. En embriones de 18 días de desarrollo embrionario solo se detectó cortisol plasmático.

De manera general las concentraciones hormonales detectadas en este estudio fueron numéricamente mucho mayores por unidad analizada a las detectadas por De Smit *et al* (2006) y Stojevick *et al* (2000)^{19,80} probablemente debido al tipo de metodología empleada para colectar el plasma y al método de detección empleado en este trabajo de investigación, ya que los autores emplearon punción intra cardiaca directa y en este estudio se obtuvo mediante el corte de la vena central del saco vitelino en embriones y por decapitación cervical en pollitos recién nacidos.

Los niveles de cortisol elevados durante el último periodo de incubación favorecen el inicio de la eclosión y reducen la duración de la ventana de nacimientos (Tona *et al* 2003).⁶⁸ Evento constatado en el presente estudio ya que en la mayoría de los resultados obtenidos con aumento en las concentraciones de cortisol, se detecto una reducción en el inicio y en la duración de la ventana de nacimientos.

Otro de los cambios fisiológicos importantes en el desarrollo embrionario que son influenciados por las condiciones ambientales durante la incubación son los cambios que ocurren en las células sanguíneas. El estímulo principal para el inicio de la eritropoyesis es la hipoxia, cuando falta oxígeno existe un estímulo directo al riñón, en donde se produce la eritropoyetina, la cual va a actuar de manera directa sobre la médula ósea, así mismo el cortisol estimula también la formación de células sanguíneas. (Charles 2003).⁷⁷ De acuerdo a lo mencionado por Burton *et al* (1983)⁷¹ al someter a los embriones a condiciones de hipoxia se observa eritrocitosis relativa ocasionada por la posible adaptación de los embriones al ambiente, en este estudio se observó que en la evaluación de células sanguíneas el hematocrito fue estadísticamente mayor en el tratamiento de ventilación limitada comparado con el tratamiento estándar en embriones de 18 días de desarrollo embrionario, así mismo, en el conteo de células sanguíneas se observo un patrón muy similar, ya que en los conteos de glóbulos rojos, proteínas totales,

linfocitos y monocitos fueron estadísticamente mayores en el tratamiento de ventilación limitada. Esto debido a que el estado de hipoxia genera cambios fisiológicos adaptativos en el embrión que hacen más eficiente la formación de células encargadas del transporte de O_2 y por lo tanto los embriones son capaces de adaptarse a las altas concentraciones de CO_2 . En cuanto a la evaluación de estos parámetros sanguíneos en los pollitos recién nacidos no se observaron diferencias estadísticas significativas en el hematocrito, cantidad de glóbulos rojos y proteínas totales, únicamente se observaron diferencias estadísticas en la cantidad de heterófilos circulantes, en donde estos fueron mayores en el tratamiento de ventilación estándar; mientras que la cantidad de monocitos circulantes, en la cual fueron mayores en el tratamiento de ventilación limitada. La razón por la cual se pueden observar estas diferencias estadísticas en las células sanguíneas circulantes en embriones y pollos recién nacidos puede ser ocasionada por la ruta de formación de glóbulos rojos en el desarrollo embrionario durante la incubación ya que al inicio del desarrollo embrionario las células sanguíneas son de origen mesoblástico, iniciando su formación en la parte posterior del disco germinal, las cuales se encuentran como islotes en el saco vitelino, estas aun no poseen hemoglobina, la cual la va a adquirir después de las primeras 48 horas de desarrollo embrionario en donde la formación de la sangre es más activa en el saco vitelino, alcanzando su máxima actividad alrededor del día 11 (DE) y posteriormente disminuye su actividad alrededor del día 18 (DE), en donde la formación de células sanguíneas es mayor en el bazo; y al final de la incubación y en el nacimiento está dada en su mayoría por la médula ósea. (Charles *et al* 2003).⁷⁷ Por otra parte es importante mencionar que la formación de los leucocitos se encuentra relacionada con el llamado “factor estimulante de los granulocitos”, el cual se produce a partir de los monocitos circulantes, en condiciones de estrés e inflamación en conjunto con la producción de glóbulos rojos estimulan la formación de glóbulos blancos. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo, ya que se observó que en el tratamiento de ventilación limitada la producción de monocitos fue superior tanto en embriones de 18 días de desarrollo embrionario como en los pollitos recién

nacidos, lo cual hace suponer que el tratamiento de ventilación limitada al generar un estado de estrés, produce una mayor cantidad de cortisol plasmático que estimula la producción de glóbulos rojos evidenciada con el incremento del hematocrito y conteos celulares, así como una mayor producción de glóbulos blancos expresada con el aumento en las concentraciones de heterófilos y monocitos observadas. Por lo tanto el aumento de las concentraciones de CO₂ ambientales modifica la producción de células sanguíneas durante el desarrollo embrionario (Burton *et al*, 1969; Charles 2003; Terry *et al* 1995).^{71, 77, 89}

Las concentraciones de CO₂ endógeno producido durante la primera etapa de incubación muestran tener efectos benéficos en el desarrollo embrionario, sin embargo, el efecto sobre el desarrollo embrionario y el desempeño productivo depende de las concentraciones de CO₂ presentes hasta el día 10 de incubación (Smith *et al*, 2006; Tona *et al*, 2006; Bruggeman *et al*, 2007; López *et al*, 2011).^{19,}

42, 55, 85

En los tratamientos en los que se aplicó el principio de ventilación limitada de acuerdo con los trabajos realizados por López *et al*; 2011, se pueden observar diversos efectos en el huevo incubable que son dependientes del tipo de sellado implementado en las máquinas, ya que observó que un tipo de sellado permitió una mayor incubabilidad y reducción de la mortalidad embrionaria ocasionada por embriones colocados en malas posiciones, mientras que otro tipo de sellado menos eficiente aumenta el porcentaje de mortalidad embrionaria y disminuye los parámetros de incubación. Estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que en el proceso de estandarización del sellado de las máquinas incubadoras se obtuvieron mayores concentraciones de CO₂ en los primeros tres experimentos que forman parte de este trabajo de investigación, en donde las concentraciones de CO₂ obtenidas fueron muy superiores a las recomendadas por De Smit *et al* (2006),⁴⁹ llegando inclusive a ser superiores a los límites de tolerancia embrionaria citados por los mismos. Un ejemplo de ello fue las 15,890 ppm obtenidos en el experimento II, las 20,380 ppm obtenidos en el experimento III, las 21,000 ppm de CO₂ del experimento IV. Estas

concentraciones mostraron algunos efectos negativos en los embriones tales como la mortalidad embrionaria en etapa II de DE (experimento II), lo cual coincide con los resultados obtenidos por López *et al* (2011)⁸⁵ disminución del porcentaje de pollitos clasificados como de primera y segunda calidad (Experimento III) y aumento de la mortalidad embrionaria en etapa III, (Experimento IV). Sin embargo, algunos de los parámetros de incubación mas importantes no fueron afectados por las altas concentraciones de CO₂ tales como la longitud del pollito al nacimiento, el peso del pollito al nacimiento, la tasa de natalidad, inicio y duración de la ventana de nacimientos y la calidad del pollito recién nacido, por lo tanto los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los obtenidos por otros autores, quienes al aplicar el concepto de ventilación limitada durante la primera mitad del desarrollo embrionario obtuvieron mejoras en diversos parámetros de incubación de manera independiente a la edad y a la estirpe que dio origen al huevo incubable (De Smit *et al*, 2006, Tona *et al*, 2006; Wolansky *et al*, 2006; De Smit *et al*, 2008; López *et al* 2011).^{19,42,55,85}

Una de las razones por las cuales algunos de los parámetros de incubación no se vieron afectados por las elevadas concentraciones de CO₂ es que al sellar las máquinas incubadoras estas mantenían las demás condiciones ambientales de forma más constante en comparación con el tratamiento estándar, el cual al carecer de sellado, fue más susceptible a los cambios ambientales presentes en el ambiente de la sala de incubación. Las condiciones ambientales controladas al interior de las máquinas incubadoras en las que se aplico el sellado para lograr un estado de ventilación limitada favorece el mantenimiento constante de la temperatura y humedad relativa al interior de las incubadoras, menor desperdicio de agua lo cual favorece que los embriones perdieran el peso adecuado tanto a los 10 como a los 18 días (DE), lo cual tuvo una repercusión directa en el peso del pollito al nacimiento (Joseph *et al*, 2006; Wolansky *et al*, 2006; Wolansky *et al*, 2008; Hullet *et al*, 2007).^{23,62,65,76}

El tratamiento de ventilación limitada durante la incubación, favorece el mantenimiento adecuado de las condiciones ambientales al interior de la

incubadora, dispara un mecanismo de respuesta fisiológica positiva, aumenta la producción de cortisol plasmático tanto en embriones como en pollitos recién nacidos, el cual favorece la producción de células sanguíneas que facilita una mejor adaptación a condiciones desfavorables al inicio de la crianza de los pollitos. Todos estos eventos favorecen que la ventana de nacimientos sea más reducida, que los embriones pierdan peso de manera adecuada, nazcan más rápido, sean de mayor calidad y tengan una mayor longitud al nacimiento, lo cual favorece su vida en etapa productiva debido a que algunos parámetros de incubación como son el peso, la longitud y la calidad del pollito al nacimiento presentan una correlación positiva con los parámetros obtenidos durante la etapa productiva de las aves (Willemsem *et al*, 2008; Wolansky *et al*, 2007; López *et al*, 2009).^{56,65,76}

El uso de la ventilación limitada como práctica en la incubación contribuye a mejorar los parámetros de incubación y el desempeño productivo de las aves sin importar la edad ni la estirpe de la cual se originan los huevos incubables.

8.0 CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en los experimentos:

-El uso de ventilación limitada durante la primera mitad de la incubación favorece el nacimiento de pollitos con mayor peso y mayor longitud al nacimiento independientemente de la edad y de la estirpe de las aves reproductoras que dan origen al huevo incubable.

-El uso de ventilación limitada en la incubación acelera el inicio del nacimiento y disminuye la duración de la ventana de nacimientos.

-Las concentraciones elevadas de CO_2 incrementan las concentraciones de cortisol plasmático en pollitos recién nacidos.

-El estado de hipoxia en embriones durante los primeros diez días de desarrollo embrionario estimula la producción de glóbulos rojos y blancos, reflejándose en un aumento en el hematocrito y conteos celulares sanguíneos.

-El sellado de las máquinas incubadoras en el tratamiento de ventilación limitada genera condiciones ambientales estables al interior de las mismas, lo cual favorece una adecuada pérdida de peso de los embriones y pollitos recién nacidos con una mejor calidad.

-El uso de la ventilación limitada en la incubación es una alternativa confiable para obtener pollitos más resistentes y de mejor calidad, siempre y cuando este proceso se adapte a cada tipo de máquina incubadora.

9.0 LITERATURA CITADA

1. **UNIÓN NACIONAL DE AVICULTORES.** Indicadores económicos. Producción pecuaria 2010, Participación porcentual. (Serie *online*) 2010. (Consultado el 9 de Marzo de 2011); Disponible en URL: <http://www.una.org.mxcontent&view=article&id=180&Itemid=138>
2. **MC QUOID D.** El manejo de una planta de incubación en un cascarón. Temas de la actualidad para la industria avícola. Boletín Jamesway 1995.
3. **HAVENSTEIN GB, FERKET PR, QURESHI MA.** Growth, livability, and feed Conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult Sci* 2003; 82:1500- 08.
4. **PEEBLES E, BRAKE J.** Eggshell quality and hatchability in broiler breeders eggs *Poult Sci* 1987; 66: 596-604.
5. **BERRY JG.** Artificial Incubation. Extensión facts from Oklahoma. Cooperative extension service, Division of agricultural sciences and natural resources. 2003; F-800 1-F8100-2.
6. **TONA K, ONAGBESAN OM, JEGO Y, KAMERS B, DECUYPERE E, BRUGGEMAN V.** Comparison of embryo physiological parameters during incubation, chick quality, and growth performance of three lines of broiler breeders differing in genetic composition and growth rate. *Poult Sci* 2004; 83:507-513.

7. **VÁZQUEZ JL, PRADO OF, GARCÍA LJ, JUÁREZ EMA.** Efecto de la edad de la reproductora sobre la incubabilidad y tiempo de nacimiento del pollo de engorda. *Avances en Investigación Agropecuaria* 2006; 10(1):21-28.
8. **SUAREZ ME, WILSON HR, MATHER FB, WILCOX CJ, MCPHERSON BN.** Effect of strain and age of the broiler breeder female on incubation time and chick weight. *Poult Sci* 1997; 76:1029-36.
9. **BROILER MANAGEMENT GUIDE.** Cobb 500 Plus. Cobb-Vantress Inc. PO Box 1030, Siloam Springs, Arkansas 72761. U.S.A. 2006.
10. **ROSS 308 MANAGEMENT GUIDE.** Roos 308. Aviagen Incorporated. 439 Marlborough Road Glastonbury, CT. U.S.A. 2005.
11. **HARVESTEIN GB, FERKET PR, QUIRESHI MA.** Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broiler diets broiler when fed “typical” 1957 and 2001 broiler diets. *Poult. Sci.* 2003; 82: 1509 –18.
12. **SCHAAL T, CHERIAN G.** A survey of the hatchability of broiler and turkey eggs in the United States from 1985 through 2005. *Poult Sci* 2007; 86: 598-600.
13. **ONAGBESAN O, BRUGGEMAN L, DE SMITH L, DEBONNE M, WITTERS A, TONA K ET AL.** Gas exchange during storage and incubation of avian eggs: effects on embryogenesis, hatchability, chick quality and post-hatch growth. *World Poult Sci* 2007; 63: 559 - 71.
14. **FRENCH NA.** Modeling incubation temperature: The effects of incubator design, embryonic development, and egg size. 1997 *Poult Sci* 76:124– 33.

15. **CHRISTENSEN VL, WINELAND MJ, ORT DT, MANN KM.** Eggshell conductance and incubator ventilation as factors in embryo survival and poult quality. *Inter J of Poult Sci* 2005; 4:818- 26.
16. **BRANNAN KE.** The effect of early incubation temperature and late incubation conditions on embryonic development and subsequent broiler performance. (Thesis of Master of Science) Raleigh (North Carolina): North Carolina State University, 2007.
17. **ELIBOL O, TURKOGLU M.** Effects of single and multi-stage incubation system on hatching performance of broiler breeder eggs. *Turk Animal Sci* 2001; 25: 335- 39.
18. **VILLAMOR E, KESSELS CGA, RUITJENBEEK K, VAN SUYLEN RJ, BELIK J, DE MEY JGR, ET AL.** Chronic *in ovo* hypoxia decreases pulmonary arterial contractile reactivity and induces biventricular cardiac enlargement in the chicken embryo. *Physiol Regul Integr, Comp Physiol* 2004;287: 642-651.
19. **DE SMIT LD, BRUGGEMAN V, TONA JK, DEBONNE M, ONAGBESAN O, ARCKENS L, ET AL.** Embryonic developmental plasticity of the chick: Increased CO₂ during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal growth. *Comp Bioch and Physiol: Part A* 2006; 145:166-75.
20. **SBONG S, DZIALOWSKY E.** Respiratory and cardiovascular responses to acute hypoxia and hiperoxia in internal pipped chicken embryos. *Comp Biol and Physiol.* 2007; 148:761-68.

21. **ELIBOL O, PEAK SD, BRAKE J.** Effect of frequency of turning from three to eleven days of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 2003; 82: 357- 59.
22. **COLLIN A, PICARD M, YAHAV S.** The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick embryogenesis on body weight and body temperature of post-hatched chicks. *Anim Res* 2005; 54:105-11.
23. **JOSEPH NS, LOURENS A, MORAN ET.** The effects of suboptimal eggshell temperature during incubation on broiler chick quality, live performance, and further processing yield. *Poult Sci* 2006; 85:932-38.
24. **HÉRNANDEZ JA.** Efecto de diferentes concentraciones de bióxido de carbono y oxígeno durante la incubación, calidad del pollito recién nacido y desempeño productivo. (Tesis de Maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2007.
25. **ELIBOL O, BRAKE J.** Effect of egg weight and position relative to incubator fan on broiler hatchability and chick quality. *Poult Sci* 2008; 87: 1913-18.
26. **YASSIN H, VELTHUIS AGJ, BOERJAN M, RIEL J, HUIRNE RBM.** Field study on broiler eggs hatchability. *Poult Sci* 2008; 87: 2408-17.
27. **WILSON HR.** Interrelationship of egg size, chick size, posthatching growth and hatchability. *World's Poult Sci J* 1991; 47:5-20.
28. **BRUZUAL JJ, PEAK SD, BRAKE J, PEEBLES ED.** Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder flocks. *Poult Sci* 2000; 79: 827-30.

29. **YILDIRIM I, AYGÜN A.** Effects of high hatcher temperature application during plateau and pipping stages of incubation on hatching results in broiler hatching eggs. *Arch Geflügelk* 2005; 69:231-34.
30. **LOURENS A, MOLENAAR R, VAN DEN BRAND H, HEETKAMP MJW, MEIJERHOF R, KEMP B.** Effect of egg size on heat production and the transition of energy from egg to hatchling. *Poult Sci* 2006; 85:770-76.
31. **BRUZUAL JJ, PEAK SD, BRAKE J, PEEBLES ED.** Effects of relative humidity during the last five days of incubation and brooding temperature on performance of broiler chicks from young broiler breeders. *Poult Sci* 2000; 79:1385-1391.
32. **PEEBLES ED, BURNHAM MR, GARDNER CW, BRAKE J, BRUZUAL JJ, GERARD PD.** Effects of incubational humidity and hen age on embryo composition in broiler hatching eggs from young breeders. *Poult Sci* 2001; 80:1299-1304.
33. **AR A, RAHN H.** Interdependence of gas conductance, incubation length, and weight of the avian egg. Pages 227-36. In: *Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic*. J. Piiper, edi. Springer Verlag, New York, NY. 1978.
34. **SZDZUY K, MORTOLA JP.** Ventilatory chemosensitivity of the 1-day-old chicken hatchling after embryonic hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293:1640- 49.
35. **RUIJTENBEEK K, LE NOBLE F, CANSEN G, FESSOL S, FAZZI G, BLANCO C.** Chronic hypoxia stimulates periarterial sympathetic nerve, development in chicken embryo. *Circulation* 2000; 102: 2842-97.

36. **ROWET E, TINTU A, SCHELLINGS M, VAN BILSEN M, LUTGENS E, HOFSTRA L, ET AL.** Hypoxia induces aortic hypertrophic growth, left ventricular dysfunction, and sympathetic hyperinnervation of peripheral arteries in the chick embryo. *Circulation* 2002; 105:2791-96.
37. **CHAN T, BURGGREN W.** Hypoxic incubation created differential morphological effects during specific developmental critical windows in the embryo of the chicken (*Gallus gallus*) *Resp physiol and Neurobiol.* 2005; 145: 251- 63.
38. **PAASH ML.** Desarrollo de algunas investigaciones sobre síndrome ascítico en México. *Ciencia Veterinaria* 1991; 59: 1-11.
39. **JULIAN R.** Ascites in poultry. *Avian Pathol* 1993; 22:419-54.
40. **BURTON R, SMITH A.** Effect of polycitemia and chronic hypoxia in heart mass in the chicken. *J Appl Physiol* 1967; 4: 782- 85.
41. **GEYRA A, UNI Z, SKLAN D.** Eritrocyte dynamics and mucosal develop in the posthatch chick. *Poult Sci* 2001; 86: 776- 82.
42. **BRUGGEMAN V, WITTERS A, DE SMIT LD, DEBONNE M, EVERAERT N, KAMERS B, ET AL.** Acid–base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO₂ concentrations during the first 10 days of incubation. *Resp Physiol & Neurobiol* 2007; 159: 147- 54.
43. **DE SMIT LD, BRUGGEMAN V, DEBONNE M, TONA JK, KAMERS B, EVERAERT N, ET AL.** The effect of nonventilation during early incubation

on the embryonic development of chicks of two commercial broiler strains differing in ascites susceptibility. *Poult Sci* 2008; 87: 551-60.

44. **MILENE A, AZZAM J, MORTOLA P.** Organ growth in chicken embryos during hypoxia: Implications on organ “sparing” and “catch-up growth”. *Resp Physiol and Neurobiol.* 2007; 259:155- 62.
45. **TONA K, ONAGBESAN O, DE KETELEARE B, DECUYPERE E, BRUGGEMAN V.** Effects of turning duration during incubation on corticosterone and thyroid hormone levels, gas pressures in air cell, chick quality, and juvenile growth. *Poult Sci* 2003; 82: 1974-79.
46. **EPPEL A, GOWER B, BUSCH T, GILL T.** Stress responses in avian embryos. *Avian Zool.* 1997; 37: 536-45.
47. **SKLAN D, NOY Y.** Hidrolisis and absortion in the small intestines of posthatch chicks. *Poult Sci* 2000; 79: 1306-10.
48. **UNI Z, NOY Y, SKLAN D.** Posthatch development of small intestinal function in the poult. *Poult Sci* 1999; 78:215-22.
49. **UNI Z, TAKO E, GAL-GARBER O, SKLAN D.** Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poult Sci* 2003; 82:1747-54.
50. **PEDERNERA E.** Adrenocorticotropic activity in vitro of the chick embryo pituitary gland. *Gen and Compar Endocrinol* 1972; 78: 215-22.

51. **TAKO E, FERKET PR, UNI Z.** Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and β -Hydroxy- β -Methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poult Sci* 2004; 83:2023-28.
52. **GEYRA A, UNI Z, SKLAN D.** The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *British J of Nutr* 2001; 86: 53-61.
53. **WILLEMSSEN H, EVERAERT N, WITTERS A, DE SMIT L, DEBONNE M, VERSCHUERE F, ET AL.** Critical Assessment of chick quality measurements as an indicator of posthatch performance. *Poult Sci* 2008; 87:2358-66.
54. **LOURENS A, VAN DEN BRAND H, MEIJERHOF R, KEMP B.** Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and posthatch development. *Poult. Sci* 2005; 84:914-20.
55. **TONA K, BAMELIS F, DE KETELEARE, BRUGGERMAN V, MORAES V, BUYSE.** Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality and chick juvenile growth. *Poult Sci* 2003; 82:736-41.
56. **LÓPEZ CS, JUÁREZ EMA, PRADO ROF.** Una escala no invasiva para la clasificación de calidad en pollitos recién nacidos permite valorar el proceso de incubación XXXIV convención ANECA 2009. Acapulco de Juárez (Guerrero); México A.N.E.C.A., AC. 1-9 pp.
57. **O´DEA E, FASENKO GM, FEDDES JJR, ROBINSON FE, SEGURA JC, OUELLETTE CA, ET AL.** Investigating the eggshell conductance and

embryonic metabolism of modern and unselected domestic avian genetic strain at two flock ages. *Poult Sci* 2004; 83: 2059-70.

58. **TONA K, ONAGBESAN OM, BRUGGEMAN V, MERTENS K, DECUYPERE E.** Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation *Poult Sci* 2005; 84:315-20.
59. **FASENKO G, O' DEA E.** Evaluating broiler growth and mortality in chicks with minor navel conditions at hatching. *Poult Sci* 2008; 87: 594-97.
60. **PEEBLES ED, KEIRS RW, BENNET LW, CUMMINGS TS, WHITMARSH SK, GERARD PD.** Relationships among prehatch and posthatch physiological parameters in early nutrient restricted broiler hatched from eggs laid by young breeder hens. *Poult Sci* 2005; 84: 454-61.
61. **LEKSRISOMPONG N, ROMERO-SANCHEZ H, PLUMSTEAD PW, BRANNAN KE, BRAKE J.** Broiler incubation 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. *Poult Sci* 2007; 86: 2685-91.
62. **HULET R, GLADYS G, HILL D, MEIJERHOF R, EL-SHIEK T.** Influence of egg shell embryonic Incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristic. *Poult Sci* 2007; 86: 408-12.
63. **ELIBOL O, BRAKE J.** Effect of flock age, cessation of egg turning, and turning frequency through the second week of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult Sci* 2006; 85:1498-1501.

64. **ELIBOL O, BRAKET J.** Effect of egg turning angle and frequency during incubation on hatchability and incidence of unhatched broiler embryos with head in the small end of the egg. *Poult Sci* 2006; 85:1433-37.
65. **WOLANSKY N, RENEMA A, ROBINSON FE, DOYLE S, ZUMIWALT C.** Relationships between chick. Conformation and quality measures with early growth traits in males of eight selected pure or commercial broiler breeder strains. *Poult Sci* 2006; 85:1490-97.
66. **PEEBLES ED, DOYLE SM, ZUMWALT CD, GERARD PD, LATOUR MA, BOYLE CR, ET AL.** Breeder age influences embryogenesis in broiler hatching eggs. *Poult Sci* 2001;80:272-77.
67. **BAUMANN R, PADEKEN S, HALLER EA, BRILMAYER T.** Effects of hypoxia on oxygen affinity, hemoglobin embryos pattern and blood volume of early chicken. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1983; 244:733-41.
68. **TONA K, MALHEIROS RD, BAMELIS F, CAREGHI C, MOARES VM, ONAGBESAN O, ET AL.** Effects of storage time on incubating eggs gas pressure, thyroid hormones and cortiscosterone levels in embryos and on their hatching parameters. *Poult Sci* 2003; 82:840-45.
69. **ELIBOL O, BRAKE J.** Effect of frequency of turning from three to eleven days of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 2003; 82: 357- 59.
70. **KUURMAN WW, BAILEY BA, KOOPS WJ, GROSSMAN M.** A model for failure of a chicken embryo to survive incubation. *Poultry Science* 2003; 82:214-22.

71. **BURTON RR, SMITH AH, CARLISLE JC, SLUKA SJ.** Role of hematocrit, heart mass and high altitude exposure in acute hypoxia tolerance. *J. Appl Physiol* 1969; 27:49-52.
72. **BURTON FG, TULLET SG.** The effect of egg weight and shell porosity on the growth and water balance of the chicken embryo. *Comp Biochem Physiol.* 1985; 81: 377- 85.
73. **MCMILLAN I, QUINTON VM.** Selection strategies for limiting the increase in ascites while increasing growth in broilers. *Poult Sci* 2002; 81:737- 44.
74. **TONA K, BAMELIS F, COUKE, BRUGGEMAN V, DECUYPERE E.** Relationships between breeder age, and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large scale conditions. *J. Appl. Poult. Res.* 2001; 10: 221-27.
75. **BOERJAN M.** Maximizando la uniformidad y la calidad de los pollitos. *Boletín AP, Pass Reform Hatchery Technologies* 2005; 23: 18-23.
76. **WOLANSKY NJ, RENEMA RA, ROBINSON FE, CARNEY VL, FANCHER BI.** Relationships among eggs characteristics, chick measurements and early growth traits in ten broiler breeder strains. *Poult Sci* 2007; 86: 1784-92.
77. **CHARLES M.** Manual de hematología aviar, primera edición Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. 2003.
78. **LIMA MA.** Patogénesis de las hemorragias en aves Leghorn infectadas con la cepa 73688 del virus de la infección de la bolsa de Fabricio. (Tesis Maestría). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2004.

79. **STOJEVIC Z, MILINKOVIC T, CURCIJA K.** Changes in thyroid hormones concentrations in chicken blood plasma during fattening. *Vet. Arhiv.* 2000; 1: 31-37.
80. **MUNRO C, STABENFELDT G.** Development of a microtitre plate enzyme immunoassay for the determination of progesterone. *J. Endocrinol* (1984) 101: 41-49.
81. **DANIEL W.** Bioestadística, cuarta edición Limusa wiley, 2003.
82. **DUCOING WA.** Introducción a la Estadística Primera edición, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2009.
83. **GILL JL.** Design and analysis of experiments in the animal and sciences. Vol. 1 Ames (Io): The Iowa State University Press, 1978.
84. **KUEL R.** Diseño de experimentos. Segunda edición. Learning Thomson. 2001.
85. **BOERJAN M.** Incubación circadiana XXXV convención ANECA 2010. Oaxaca de Juárez (Oaxaca); México A.N.E.C.A., AC. 73pp.
86. **LÓPEZ RE.** Desarrollo embrionario durante la incubación con incremento gradual de CO₂ en huevos fértiles de gallina domestica (*Gallus gallus*). (Tesis de Licenciatura). Mexico (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2011.
87. **VAISERMAN AM.** Epigenetic engineering and its possible role in anti-aging intervention. *Rejuvenation Res* 2008; 11(1):39-42.

88. **BAHADORAN S, HASSANZADEH M, ZAMANIMOGHADDAM AK.** Effect of chronic hypoxia during the early stage of incubation on prenatal and postnatal parameters related to ascites syndrome in broiler chickens. Iranian J of Vet Res 2010; 11(1,):64-71.
89. **TERRY W.** Avian Hematology and Citology second edition, Iowa State University Press 1995.
90. **MORAN ET.** Nutrition of the developing embryo and hatchling. Poult Sci 2007; 86: 1043 - 49.
91. **TONA K, ONAGBESAN O, BRUGGEMAN V, DE SMIT L, FIGUEIREDO D. DECUYPERE E.** Non-ventilation during early incubation in combination with dexamethasone administration during late incubation: 1 Effects on physiological hormone levels, incubation duration and hatching events. Dom Ani Endocrinol 33: 32-46.

ANEXO

CUADROS DE RESULTADOS

Experimento I

Cuadro 1. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras *Bovans white* de 33 semanas de edad incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Porcentaje de fertilidad. **	96.81±1.37 ^A	93.64±3.64 ^A
Tasa de Natalidad. **	54.75±6.30 ^A	49.20±2.75 ^A
Porcentaje de Incubabilidad. **	56.58±6.78 ^A	52.60±3.82 ^A
Embriones muertos en Etapa I ***	(13.39%) ^A	(29.48%) ^B
Embriones muertos en Etapa II***	(23.61%) ^A	(29.42%) ^A
Embriones muertos en Etapa III***	(53.86%) ^A	(46.52%) ^A
Embriones muertos en Etapa IV***	(5.25%) ^A	(5.35%) ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05).

***Valor porcentual observado a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, prueba Xi² (P < 0.05).

Cuadro 2. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de *Bovans White* incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo(g)**	60.06±3.04 ^A	60.45±3.59 ^A
Peso promedio huevo día 10(g)**	57.67±2.5 ^A	57.1±3.8 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 10**	3.29±1.06 ^A	6.95±0.76 ^B
Peso promedio de huevo día 18(g)**	51.91±2.96 ^A	52.82±3.42 ^B
Porcentaje final de pérdida de peso**	12.63±2.5 ^A	10.92±3.3 ^B
Temperatura promedio día 1 al 18***	37.57±0.34 ^A	37.53±0.28 ^A
Temperatura promedio días 19- 21***	37.26±0.23 ^A	37.21±0.21 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n= 4 máquinas

***Promedio de temperatura en grados centígrados por periodo

Cuadro 3. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves *Bovans white* provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Inicio ventana de nacimientos (PE)**	482 ± 3.4 ^A	487 ± 1.15 ^A
Termino ventana de nacimientos(Horas)**	515±5.3 ^A	524±5.0 ^B
Ventana de nacimiento en (Horas) **	31.33±2.3 ^A	37.33±4.1 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=4 máquinas

Cuadro 4. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO_2 durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Peso del pollito al nacimiento(g) §	40±2.8 ^A	38.9±2.6 ^B
Longitud del pollito al nacimiento(Cm) §	16.58±0.6 ^A	16.30±0.62 ^B
Excelente (%) ** Φ	50.7 ^A	47.2 ^B
Bueno (%) ** Φ	36.32 ^A	44.00 ^B
Regular (%) ** Φ	9.97 ^A	8.81 ^A
Deficiente (%) ** Φ	1.3 ^A	0 ^A
Inaceptable (%) ** Φ	2.08 ^A	0 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Φ n= 3 § n= 141.

Cuadro 5. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) de huevos fértiles de *Bovans white* incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Día 1	21.1±0.2	0±0 □	0±0	20.63±0.2	0±0	0±0*
Día 2	21.0±0.1	0±0 □	0±0	20.59±0.1	0±0	0±0*
Día 3	21.0±0.0	0±0 □	0±0	20.56±0.09	0±0	0±0*
Día 4	21.1±0.0	0±0 □	0±0	20.53±0.0	0±0	0±0*
Día 5	21.1±0.1	0±0 □	0±0	20.59±0.9	0±0	0±0*
Día 6	21.1±0.1	0±0 □	0±0	20.70±0.0	0±0	0±0*
Día 7	21.1±0.1	0±0 □	0±0	20.63±0.1	0±0	0±0*
Día 8	21.0±0.1	0±0 □	0±0	20.72±0.32	0±0	0±0*
Día 9	21.0±0.3	0±0 □	0±0	20.65±0.09	0±0	0±0*
Día 10	20.9±0.3	0±0 □	20.40±0.43 ^A	20.69±0.7 ^A	8892±3554 ^A	0±0*
Día 11	21.1±0.1	0±0 □	20.67±0.06 ^A	20.67±0.04 ^A	232±258 ^A	257±302 ^B
Día 12	21.1±0.1	0±0 □	20.70±0.07 ^A	20.64±0.05 ^A	461±222 ^A	525±110 ^A
Día 13	21.2±0.2	0±0 □	20.68±0.08 ^A	20.58±0.04 ^A	758±346 ^A	1065±570 ^A
Día 14	21.1±0.1	0±0 □	20.73±0.09 ^A	20.69±0.11 ^A	1212±345 ^A	1397±460 ^A
Día 15	21.1±0.0	0±0 □	20.70±0.11 ^A	20.59±0.9 ^A	1332±585 ^A	1869±336 ^B
Día 16	21.1±0.1	0±0 □	20.54±0.12 ^A	20.43±0.9 ^A	1888±685 ^A	2720±933 ^B
Día 17	20.9±0.1	0±0 □	20.53±0.13 ^A	20.40±0.13 ^A	2155±766 ^A	3171±1248 ^B
Día 18	21.1±0.0	0±0 □	20.46±0.21 ^A	20.41±0.3 ^A	2387±829 ^A	3304±1437 ^A
Día 19	21.1±0.1	0±0 □	20.53±0.1 ^A	20.34±0.11 ^A	2963±846 ^A	3867±1764 ^A
Día 20	21.0±0.0	0±0 □	20.73±0.1 ^A	20.53±0.34 ^A	2861±816 ^A	4290±1985 ^A
Día 21	21.1±0.1	0±0 □	20.63±0.1 ^A	20.54±0.1 ^A	2943±864 ^A	4350±1563 ^A

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX®

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Cuadro 6. Pesos en gramos de órganos de pollitos recién nacidos bajo tratamiento de incremento progresivo en las concentraciones de CO₂ al interior de las máquinas incubadoras.

Órgano	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Corazón**	0.31±0.05 ^A	0.32±0.04 ^A
Hígado**	0.91±0.09 ^A	1.01±0.10 ^B
Saco Vitelino**	6.47±1.36 ^A	6.51±1.17 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

EXPERIMENTO II

Cuadro 7. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras *Bovans white* de 36 semanas de edad incubados bajo un esquema de aumento progresivo de las concentraciones de CO₂ mayor a 15,000 ppm, durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Porcentaje de fertilidad. **	91.25±1.37 ^A	93.64±3.6 ^A
Tasa de Natalidad. **	63.59±4.4 ^A	53.23±2.6 ^A
Porcentaje de Incubabilidad**	50.16±21.74 ^A	48.51±8.4 ^A
Embriones muertos en Etapa I ***	(29.88%) ^A	(33.10%) ^A
Embriones muertos en Etapa II ***	(37.34%) ^A	(33.16%) ^B
Embriones muertos en Etapa III ***	(24.69%) ^A	(23.98%) ^B
Embriones muertos en Etapa IV ***	(8.1%) ^A	(9.67%) ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05), n=3.

***Valor porcentual observado a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, prueba Xi² (P < 0.05), n=3.

Cuadro 8. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de *Bovans White* incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concépto	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo **	57.50±3.21 ^A	57.97±3.21 ^A
Peso promedio huevo día 10 **	53.57±2.6 ^A	53.96±2.6 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 10 **	8.58±1.14 ^A	7.70±2.46 ^A
Peso promedio de huevo día 18 **	50±3 ^A	50.54±3.1 ^A
Porcentaje final de pérdida de peso **	13.05±1.85 ^A	14.43±3.86 ^B
Temperatura promedio día 1 al 18***	37.66±0.31 ^A	37.70±0.28 ^A
Temperatura promedio días 19- 21***	37.18±0.14 ^A	37.09±0.1 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Cuadro 9. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves *Bovans white* provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada *	Ventilación estándar
Inicio ventana de nacimientos (PE) **	498.66±1.15 ^A	501.33±3.05 ^A
Termino ventana de nacimientos. **	523±5.7 ^A	524±5.0 ^A
Duración de ventana de nacimiento en horas. **	24.66±4 ^A	23.33±2 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Cuadro 10. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Peso del pollito al nacimiento (g) §	37.69±3.31 ^A	37.78±2.88 ^A
Longitud del pollito al nacimiento (Cm) §	16.60±0.47 ^A	16.60±0.60 ^A
Excelente (%) ** Φ	25.22 ^A	20.71 ^B
Bueno (%) ** Φ	25.80 ^A	30.01 ^B
Regular (%) ** Φ	19.44 ^A	18.03 ^A
Deficiente (%) ** Φ	14.54 ^A	12.15 ^B
Inaceptable (%) ** Φ	15.0 ^A	19.1 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Φ n= 3 § n= 100.

Cuadro 11. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) de huevos fértiles de *Bovans white* incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación limitada *	Ventilación estándar	Ventilación limitada *	Ventilación estándar
Día 1	20.97±0.06	0± 0□	0± 0□	20.68±0.7	0± 0□	0± 0*
Día 2	21±0.0	0 ± 0□	0 ± 0	20.66±0.15	0 ± 0□	0 ± 0*
Día 3	20.83±0.31	0 ± 0□	0 ± 0	20.62±0.13	0± 0□	0 ± 0*
Día 4	21.05±0.7	0 ± 0□	0 ± 0	20.8±0.15	0 ± 0□	0 ± 0*
Día 5	20.77±0.21	0 ± 0□	0 ± 0	20.63±0.14	0± 0□	0 ± 0*
Día 6	20.93±0.06	0 ± 0□	0 ± 0	20.48±0.9	0 ± 0□	0 ± 0*
Día 7	20.93±0.21	0 ± 0□	0 ± 0	20.72±0.06	0± 0□	0 ± 0*
Día 8	20.77±0.25	0 ± 0□	0 ± 0	20.62±0.12	0 ± 0□	0 ± 0*
Día 9	21±0.1	0± 0□	0 ± 0	20.67±0.9	0 ± 0□	0± 0*
Día 10	21.03±0.06	0± 0□	20.75±0.43 ^A	20.63±0.1 ^A	15890±4431 ^A	0± 0*
Día 11	21.1±0	0± 0□	20.71±0.7 ^A	20.66±0.1 ^A	20±0.1 ^A	45±84 ^B
Día 12	20.90±0	0 ± 0□	20.50±0.16 ^A	20.53±0.08 ^A	0±0*	186.77±88.22 ^B
Día 13	21.05±0.7	0 ± 0□	20.43±0.13 ^A	20.46±0.12 ^A	250±208 ^A	248±302 ^A
Día 14	21±0.0	0 ± 0□	20.45±0.3 ^A	20.43±0.1 ^A	358±325 ^A	511±440 ^A
Día 15	20.90±0.0	0 ± 0□	20.36±0.08 ^A	20.38±0.15 ^A	1166±584 ^A	1135±653 ^A
Día 16	20.70±0.14	0 ± 0□	20.31±0.11 ^A	20.25±0.10 ^A	1471±410 ^A	1633±749 ^A
Día 17	20.70±0.28	0 ± 0□	20.26±0.10 ^A	20.25±0.08 ^A	1998±360 ^A	2075±986 ^A
Día 18	20.63±0.06	0 ± 0□	20.33±0.21 ^A	20.31±0.14 ^A	2118±429 ^A	2321±67 ^A
Día 19	20.63±0.06	0± 0□	20.32±0.13 ^A	20.25±0.10 ^A	2276±407 ^A	2965±959 ^A
Día 20	20.70±0.20	0± 0□	20.3±0.08 ^A	20.3±0.08 ^A	2322±299 ^A	2593747 ^A
Día 21	20.63±0.06	0± 0□	20.3±0.15 ^A	20.3±0.1 ^A	2540±210 ^A	2356±834 ^A

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

** Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

EXPERIMENTO III

Cuadro 12. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras *Bovans white* de 40 semanas de edad incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Porcentaje de fertilidad **	82.22±1.92 ^A	88.89±3.8 ^A
Porcentaje de Incubabilidad **	60.76±2.91 ^A	48.70±2.21 ^B
Tasa de Natalidad **	49.99±3.33 ^A	43.33±3.33 ^B
Embriones muertos en Etapa I ***	(27.88%) ^A	(33.17%) ^A
Embriones muertos en Etapa II ***	(36.34%) ^A	(33.16%) ^A
Embriones muertos en Etapa III ***	(23.70%) ^A	(9.67%) ^B
Embriones muertos en Etapa IV ***	(7.14%) ^A	(9.67%) ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05), n=3.

***Valor porcentual observado a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, prueba Xi² (P < 0.05), n=3.

Cuadro 13. Peso del huevo, porcentaje de pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de *Bovans White* incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo. **	53.58±2.58 ^A	53.86±3.22 ^A
Peso promedio huevo día 10 **	48.96±2.1 ^A	50.48±2.7 ^B
Porcentaje pérdida de peso día 10 **	7.27±0.95 ^A	5.91±0.81 ^A
Peso promedio de huevo día 18 **	47.08±2.41 ^A	42.21±4.1 ^B
Porcentaje final de pérdida de peso. **	11.90±1.84 ^A	11.97±2.69 ^A
Temperatura promedio día 1 al 18	37.65±0.43 ^A	37.57±0.48 ^A
Temperatura promedio días 19- 21	37.12±0.16 ^A	37.04±0.13 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=3

Cuadro 14. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves *Bovans white* provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada.*	Ventilación estándar
Inicio ventana de nacimientos. (PE) **	491.33±5.77 ^A	492±5.29 ^A
Termino ventana de nacimientos. **	526±6.92 ^A	524.66±3 ^A
Duración de ventana de nacimiento en horas. **	34.66±1.15 ^A	32.66±3 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=3

Cuadro 15. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada *	Ventilación estándar
Peso del pollito al nacimiento (g)§	35.46±3.66 ^A	34.49±2.33 ^A
Longitud del pollito al nacimiento (cm)§	16.99±0.49 ^A	16.73±0.40 ^B
Excelente (%) ** Φ	35.37 ^A	40.80 ^B
Bueno (%) **Φ	43.01 ^A	50.85 ^B
Regular (%) ** Φ	21.80 ^A	5.68 ^B
Deficiente (%) ** Φ	0 ^A	2.67 ^B
Inaceptable (%) **Φ	0	0

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Φ n= 3 § n= 84.

Cuadro 16. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) de huevos fértiles de *Bovans white* de 40 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Día 1	20.75±0.7	0± 0 [□]	0± 0 [□]	20.63±0.06	0± 0 [□]	0± 0 [*]
Día 2	20.77±0.12	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.72±0.08	0 ± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 3	20.87±0.23	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.55±0.13	0± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 4	20.83±0.29	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.50±0.04	0 ± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 5	20.83±0.29	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.65±0.05	0± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 6	20.87±0.23	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.62±0.11	0 ± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 7	20.83±0.29	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.50±0.08	0± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 8	20.53±0.45	0 ± 0 [□]	0 ± 0	20.70±0.08	0 ± 0 [□]	0 ± 0 [*]
Día 9	20.97±0.06	0± 0 [□]	0 ± 0	20.50±0.06	0 ± 0 [□]	0± 0 [*]
Día 10	20.83±0.29	0± 0 [□]	20.75±0.43 ^A	20.67±0.05 ^A	20,380±497 ^A	186.97±101 ^B
Día 11	20.67±0.21	0± 0 [□]	20.36±0.5 ^A	20.58±0.1 ^A	148.77±249 ^A	186.77±144 ^A
Día 12	20.93±0.06	0 ± 0 [□]	20.80±0.8 ^A	20.70±0.0 ^A	630±322 ^A	426±234 ^B
Día 13	20.90±0	0 ± 0 [□]	20.57±0.04 ^A	20.57±0.06 ^A	971±445 ^A	636±380 ^A
Día 14	21.00±0	0 ± 0 [□]	20.54±0.05 ^A	20.58±0.06 ^A	1468.89±642 ^A	1075±520 ^A
Día 15	21.00±0	0 ± 0 [□]	20.54±0.05 ^A	20.58±0.06 ^A	1875±711 ^A	1588±718 ^A
Día 16	20.97±0.06	0 ± 0 [□]	20.50±0.07 ^A	20.55±0.11 ^A	2474±751 ^A	2302±621 ^A
Día 17	20.93±0.06	0 ± 0 [□]	20.50±0.3 ^A	20.26±0.05 ^B	2990±793 ^A	2686±407 ^A
Día 18	20.90±0.06	0 ± 0 [□]	20.56±0.05 ^A	20.56±0.05 ^A	3473±541 ^A	2960±388 ^B
Día 19	21.00±0	0± 0 [□]	20.53±0.05 ^A	20.53±0.05 ^A	2736±1019 ^A	3200±270 ^A
Día 20	21.00±0	0± 0 [□]	20.50±0. ^A	20.46±0.05 ^A	2816±941 ^A	3300±229 ^A
Día 21	20.97±0.06	0± 0 [□]	20.53±0.1 ^A	20.50±0.08 ^A	2870±905 ^A	3250±263 ^A

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Cuadro 17. Concentraciones plasmáticas de las hormonas T3, T4 y cortisol (ng/μl) en embriones de 18 días de desarrollo embrionario y en pollitos recién nacidos registrados a partir del primer día de incubación de huevos fértiles de *Bovans white* incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Hormona	Tratamiento	Embrión 18 días	Pollito recién nacido
T3**	Ventilación Limitada *	α	725.55±899 ^A
	Ventilación Estándar	α	2900±2331 ^B
T4**	Ventilación Limitada *	α	231.11±139 ^A
	Ventilación Estándar	α	357.77±187 ^A
Cortisol**	Ventilación Limitada *	185.99±145 ^A	119.45±74 ^A
	Ventilación Estándar	358.97±298 ^A	84.43±38 ^B

α Concentraciones indetectables por el kit comercial

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

** Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

EXPERIMENTO IV

Cuadro 18. Parámetros de incubación en huevos fértiles provenientes de gallinas reproductoras *Ross 308* de 52 semanas de edad incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada *	Ventilación estándar
Porcentaje de fertilidad. **	91.08±5.98 ^A	87.87±8.5 ^A
Tasa de Natalidad. **	55.08±12.39 ^A	58.76±7.77 ^A
Porcentaje de Incubabilidad. **	61.60±10.75 ^A	66.19±15.92 ^A
Embriones muertos en etapa I ***	5.25 ^A	7 ^A
Embriones muertos en etapa II ***	0.75 ^A	2.5 ^A
Embriones muertos en etapa III ***	7.75 ^A	5.75 ^B
Embriones muertos en etapa IV ***	0.25 ^A	1 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación.

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05), n=3.

***Valor porcentual observado a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, prueba Xi² (P < 0.05), n=3.

Cuadro 19. Pesos promedio del huevo al inicio de la incubación y porcentajes promedio de pérdida de peso del huevo durante la incubación.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo. **	59.66±2.6 ^A	59.92±3.1 ^A
Peso promedio huevo día 10. **	54.62±2.9 ^A	56.23±2.9 ^B
Porcentaje pérdida de peso día 10. **	7.92±1.1 ^A	5.84±1.2 ^B
Peso promedio de huevo día 18. **	51.91±2.9 ^A	52.83±2.4 ^B
Porcentaje final de pérdida de peso. **	12.63±2.5 ^A	10.92±3.3 ^B
Temperatura promedio día 1 al 18	37.63±0.38 ^A	37.45±0.5 ^A
Temperatura promedio días 19- 21	36.9±0.55 ^A	36.65±0.45 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=3

Cuadro 20. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos en horas de aves Bovans white provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Inicio ventana de nacimientos (PE) **	480±5.7 ^A	489±2.0 ^B
Termino ventana de nacimientos **	502±9.14 ^A	506±3 ^A
Ventana de nacimiento en horas **	18.66±4.6 ^A	17.5±1.91 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=3

Cuadro 21. Peso, longitud y calidad del pollito al nacimiento, provenientes de huevos incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Peso del pollito al nacimiento (g) §	41.93±2.4 ^A	40.16±2.9 ^B
Longitud del pollito al nacimiento (Cm) §	17.11±0.5 ^A	16.81±0.78 ^B
Excelente (%) **Φ	65.99±19.99 ^A	60.1±8.24 ^B
Bueno (%) ** Φ	31.30±18.64 ^A	30.16±8.2 ^B
Regular (%) ** Φ	1.5±3 ^A	1.45±2.9 ^A
Deficiente (%) ** Φ	0±0 ^A	1.45±2.9 ^A
Inaceptable (%) ** Φ	1.25±2.5 ^A	7±3 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Φ n= 4 § n= 140.

Cuadro 22. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) registrados de huevos fértiles de Ross 308 incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación limitada*	Ventilación estándar	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Día 1	20.6±3.71	01460±10	0± 0 [□]	20.56±0.11	0± 0 [□]	1469.17± 186
Día 2	20.2±0.15	01560±23	0 ± 0	20.61±0.11	0 ± 0 [□]	1341.67 ± 94.17
Día 3	20.30±0.15	2823±330	0 ± 0	20.65±0.08	0± 0 [□]	1772.5± 84.13
Día 4	22.2±0.15	2220± 0	0 ± 0	20.7±0.08	0 ± 0 [□]	1424.58 ± 84.13
Día 5	20.43±0.14	1090 ± 0	0 ± 0	20.66±0.07	0± 0 [□]	1535.83 ± 48.32*
Día 6	20.53±0.5	1083 ± 33	0 ± 0	20.66±0.08	0 ± 0 [□]	1591.66 ± 156*
Día 7	20.35±0	1500 ± 0	0 ± 0	20.63±0.07	0± 0 [□]	1730± 56*
Día 8	20.40±0.5	1070 ±340	0 ± 0	20.68±0.07	0 ± 0 [□]	1797.05 ±160
Día 9	20.85±0.12	960±45	0 ± 0	20.71±0.04	0 ± 0 [□]	1945± 122.24
Día 10	20.83±0.12	2200± 50	20.56±0.07 ^A	20.31±0.56 ^A	21697.5±49.24A	2001.25±347 ^B
Día 11	20.83±0.23	1045± 40	20.63±0.08 ^A	20.58±0.06 ^A	2906.67±425 ^A	2698.75±217 ^B
Día 12	20.78±0.23	2221± 30	20.46±0.12 ^A	20.44±0.12 ^A	2698.75±217.3 ^A	2678.75±293 ^A
Día 13	20.67±0.14	1060 ±50	20.23±0.13 ^A	20.25±0.15 ^A	3358±294 ^A	3490±278 ^A
Día 14	20.70±0.18	1067± 70	20.27±0.22 ^A	20.13±0.08 ^A	4105±353 ^A	4171.67±336 ^A
Día 15	20.60±0.15	1780±80	20.06±0.15 ^A	20.01±0-17 ^A	5110.5±674 ^A	4822.5±563.25 ^A
Día 16	20.46±0.24	1240 ± 90	20.26±0.15 ^A	20.20±0 ^A	5430±856 ^A	5702±537 ^A
Día 17	20.63±0.13	1660 ± 10	20.11±0.06 ^A	20.13±0.05 ^A	6031±748 ^A	6052±585 ^A
Día 18	20.68±0.13	1450 ± 40	20.20±0.14 ^A	20.13±0.13 ^A	6412.5±411 ^A	6255.25±623 ^A
Día 19	20.60±0.5	2249± 230	20.32±0.13 ^A	20.25±0.10 ^A	7020±516 ^A	6897.5±638 ^A
Día 20	20.63±0.06	1350± 50	20.20±0.14 ^A	20.13±0.13 ^A	5305±683 ^A	5762±509 ^A
Día 21	20.67±0.06	2200± 70	20.20±0.05 ^A	20.06±0.13 ^A	5580±845 ^A	4975±164.62 ^A

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX®

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Cuadro 23. Valores hematológicos obtenidos en embriones con 18 días de desarrollo embrionario y pollitos recién nacidos bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Embrión de 18 días de incubación		Pollito recién nacido	
	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Hematocrito (L/L)**	0.23±0.02 ^A	0.09±0.3 ^B	0.23±0.03 ^A	0.23±0.05 ^A
Proteínas totales (pp)**	72.66±34 ^A	67.81±42 ^A	15.16±1.5 ^A	13±20 ^A
Globulos Rojos (*10 ⁹ /L)**	0.88±0.31 ^A	0.78±0.19 ^A	1.87±0.30 ^A	1.79±0.40 ^A
Globulos Blancos (*10 ⁹ /L)**	2.85±0.95 ^A	3.21±2.96 ^A	5.86±2.31 ^A	5.04±2.0 ^A
Heterofilos**	41.10±10 ^A	48.50±6.8 ^B	57.32±6.52 ^A	68.41±9.92 ^B
Basofilos**	8.41±4.4 ^A	9.66±3.0 ^A	2.83±1.4 ^A	2.50±1.62 ^A
Eosinófilos**	14.83±13.95 ^A	10.58±2.15 ^A	4.25±1.65 ^A	3.83±2.40 ^A
Linfocitos**	24.83±11.31 ^A	14.91±5.0 ^B	11.33±5.12 ^A	8.08±5.45 ^A
Monocitos**	17.91±7.12 ^A	16.66±4.9 ^B	24.25±7.69 ^A	17.16±6.93 ^B

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=20

Cuadro 24. Pesos de órganos de embriones de 18 días de incubación y de pollitos recién nacidos aplicando dos diferentes tipos de tratamientos.

Órgano	Embrión de 18 días de incubación		Pollito recién nacido	
	Ventilación limitada*	Ventilación estándar	Ventilación limitada**	Ventilación estándar
Corazón**	0.138± 0.03 ^A	0.134±0.02 ^A	0.269±0.03 ^A	0.260±0.07 ^A
Hígado**	0.420±0.07 ^A	0.436±0.10 ^A	0.931±0.14 ^A	0.948±0.28 ^A
Bazo**	0.008±0.005 ^A	0.007±0.004 ^A	0.014±0.00 ^A	0.012±0.00 ^A
Bolsa de Fabricio**	0.014±0.004 ^A	0.015±0.008 ^A	0.040±0.01 ^A	0.039±0.00 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n=20.

EXPERIMENTO V

Cuadro 25. Parámetros de incubación en huevos provenientes de la estirpe Bovans White (*Gallus gallus*) de 36 semanas incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Porcentaje de Fertilidad**	93.45 ± 3.58 ^A	97.02 ± 1.19 ^A
Porcentaje de Incubabilidad**	55.74 ± 11.86 ^A	52.63 ± 8.63 ^B
Porcentaje de Natalidad**	53.82 ± 11.23 ^A	50.88 ± 8.17 ^B
Embriones muertos Etapa I***	(12.43%) ^A	(12.09%) ^B
Embriones muertos Etapa II***	(13.20%) ^A	(11.67%) ^B
Embriones muertos Etapa III***	(5.87%) ^A	(10.82%) ^B
Embriones muertos Etapa IV***	(12.76%) ^A	(12.78%) ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación. n= 4

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05),

***Valor porcentual promedio de mortalidad embrionaria; valores en la misma fila con diferente letra superíndice son diferentes entre sí, prueba χ^2 (P < 0.05).

Cuadro 26. Peso del huevo, pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de gallina ligera estirpe Bovans White (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo (g) **	56.50 ± 1.47 ^A	57.01 ± 1.39 ^A
Peso promedio huevo día 10 (g) **	53.85 ± 1.64 ^A	53.83 ± 1.50 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 10 **	4.45 ± 1.43 ^A	5.79 ± 1.20 ^B
Peso promedio huevo día 18 (g) **	50.56 ± 1.63 ^A	50.60 ± 1.83 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 18**	10.55 ± 1.36 ^A	11.36 ± 2.22 ^A
Tº Celsius. Días 1-18 ***	37.55 ± 0.25 ^A	37.57 ± 0.28 ^A
Tº Celsius Días 19-21 ***	36.99 ± 0.22 ^A	36.86 ± 0.37 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n= 4 máquinas

***Promedio de temperatura en grados centígrados por periodo.

Cuadro 27. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos de pollitos provenientes de huevos de gallina ligera (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada*	Ventilación estándar
Inicio de ventana de nacimientos (PE)**	493.0 ± 1.07 ^A	493.5 ± 2.78 ^A
Término ventana de nacimientos (Horas)**	530.0 ± 0.0 ^A	529.75 ± 0.50 ^A
Ventana de nacimientos en (Horas)**	37.0 ± 1.07 ^A	36.25 ± 3.24 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n= 4 máquinas.

Cuadro 28. Peso, longitud y calidad de los pollitos provenientes de huevos de gallina ligera (*Gallus gallus*) de la estirpe *Bovans White* incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada*	Ventilación estándar
Peso del pollito(g)**§	39.83 ± 1.81 ^A	39.67 ± 1.72 ^A
Longitud del pollito (cm)** §	16.65 ± 0.33 ^A	16.54 ± 0.33 ^B
Excelente (%)** Φ	0 ± 0	0 ± 0
Bueno (%)** Φ	30.20 ± 9.23 ^A	21.78 ± 14.88 ^A
Regular (%)** Φ	50.0 ± 13.60 ^A	37.20 ± 19.42 ^B
Deficiente (%) ** Φ	19.79 ± 15.22 ^B	36.90 ± 15.74 ^B
Inaceptable (%)** Φ	0 ± 0	4.16 ± 7.71 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes colocadas en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Φ n= 20 § n= 128.

Cuadro 29. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) registrados de huevos fértiles de *Bovans white* de 56 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Día 1	20 ± 0.1	1,016.67 ± 13.66	0 ± 0	19.77 ± 0.10	0 ± 0	1,282.5 ± 54.62
Día 2	19.76 ± 0.05	1,643.33 ± 477.1	0 ± 0	19.70 ± 0.11	0 ± 0	1,577.5 ± 387.44
Día 3	19.9 ± 0.1	1,070 ± 32.25	0 ± 0	19.78 ± 0.07	0 ± 0	1,330.0 ± 107.02
Día 4	19.86 ± 0.05	1,070 ± 38.99	0 ± 0	19.75 ± 0.06	0 ± 0	1,345.0 ± 30.89
Día 5	19.93 ± 0.25	1,030 ± 240.5	0 ± 0	19.67 ± 0.08	0 ± 0	1,306.67 ± 1015.63
Día 6	20.2 ± 0	1,073.33 ± 20.65	0 ± 0	19.79 ± 0.06	0 ± 0	1,215.83 ± 148.35
Día 7	19.9 ± 0.1	986.66 ± 60.88	0 ± 0	19.71 ± 0.11	0 ± 0	1,499.17 ± 55.99
Día 8	19.7 ± 0.17	1,096.67 ± 42.27	0 ± 0	19.59 ± 0.09	0 ± 0	1,531.67 ± 97.96
Día 9	19.96 ± 0.11	1,206.67 ± 80.66	0 ± 0	19.71 ± 0.11	0 ± 0	1,639.17 ± 80.95
Día 10	19.96 ± 0.11	1,206.67 ± 80.66	19.05 ± 0.13 ^B	19.60 ± 0.14 ^A	12,007.5 ± 1436 ^A	1,981.67 ± 414.33 ^B
Día 11	19.90 ± 0.1	1,273.33 ± 197.04	19.59 ± 0.09 ^A	18.90 ± 2.62 ^A	2,150 ± 121.95 ^A	1,985.83 ± 154.18 ^B
Día 12	19.63 ± 0.38	1,366.67 ± 289.73	19.44 ± 0.19 ^A	19.51 ± 0.19 ^A	2,382.5 ± 501.5 ^A	2,066.67 ± 131.58 ^B
Día 13	20.1 ± 0	900 ± 193.7	19.61 ± 0.11 ^A	19.67 ± 0.11 ^A	2,777.5 ± 815.36 ^A	2,250.83 ± 199.56 ^B
Día 14	19.8 ± 0.17	1,460 ± 233.92	19.45 ± 0.10 ^A	19.45 ± 0.10 ^A	3,525.83 ± 769.71 ^A	2,797.5 ± 242.34 ^B
Día 15	19.7 ± 0.26	1,676.67 ± 371.08	19.49 ± 0.12 ^A	19.50 ± 0.10 ^A	3,520.83 ± 480.04 ^A	2,941.67 ± 303.22 ^B
Día 16	19.63 ± 0.23	2,066.67 ± 443.11	19.49 ± 0.11 ^A	19.49 ± 0.19 ^A	3,615 ± 614.33 ^A	3,155.83 ± 302.43 ^B
Día 17	19.86 ± 0.15	1,156.67 ± 10.32	19.51 ± 0.08 ^A	19.56 ± 0.10 ^A	3,694.17 ± 538.25 ^A	3,230 ± 218.92 ^B
Día 18	19.86 ± 0.05	1,596.67 ± 423.54	19.58 ± 0.11 ^A	19.53 ± 0.13 ^A	3,967.5 ± 1,112.12 ^A	3,375 ± 166.65 ^{AB}
Día 19	20 ± 0	793.33 ± 177.61	19.77 ± 0.29 ^A	19.75 ± 0.38 ^A	2,323.33 ± 434.74 ^A	2,373.33 ± 346.52 ^A
Día 20	20.16 ± 0.11	723.33 ± 80.16	19.72 ± 0.19 ^A	19.71 ± 0.18 ^A	2,855 ± 881.81 ^A	2,512.5 ± 362.26 ^A
Día 21	19.83 ± 0.15	1,063.33 ± 152.4	19.64 ± 0.19 ^A	19.64 ± 0.21 ^A	3,365.83 ± 1,173.17 ^A	2,861.67 ± 187.60 ^{AB}

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX®

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

EXPERIMENTO VI

Cuadro 30. Parámetros de incubación en huevos provenientes de gallina reproductora pesada con 37 semanas de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Porcentaje de Fertilidad **	92.26 ± 7.87 ^A	92.26 ± 4.91 ^A
Porcentaje de Incubabilidad **	66.93 ± 12.96 ^A	56.71 ± 10.19 ^B
Porcentaje de Natalidad **	57.95 ± 9.33 ^A	53.18 ± 10.01 ^B
Embriones muertos Etapa I ***	(16.32%) ^B	(17.62%) ^A
Embriones muertos Etapa II***	(9.33%) ^B	(17.09%) ^A
Embriones muertos Etapa III ***	(7.43%) ^B	(17.35%) ^A
Embriones muertos Etapa IV ***	(0%) ^B	(1.20%) ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 42 huevos por incubadora; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente entre sí, Tukey (P < 0.05), n=4 máquinas HB 1583.

***Valor porcentual promedio de mortalidad embrionaria; valores en la misma fila con diferente letra superíndice son diferentes entre sí, prueba χ^2 (P < 0.05).

Cuadro 31. Peso del huevo, pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de reproductoras pesadas Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Peso promedio inicial del huevo **	61.94 ± 3.59 ^A	61.43 ± 4.07 ^A
Peso promedio huevo día 10 **	58.87 ± 3.75 ^A	58.23 ± 3.93 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 10 **	5.57 ± 1.40 ^B	6.29 ± 1.29 ^A
Peso promedio huevo día 18 **	55.29 ± 3.77 ^A	54.37 ± 3.94 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 18**	10.56 ± 1.97 ^B	11.45 ± 2.13 ^A
Tº Celsius. Días 1-18 ***	37.27 ± 0.85 ^A	37.31 ± 0.84 ^A
Tº Celsius Días 19-21 ***	36.88 ± 0.02 ^A	36.87 ± 0.05 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n= 3

***Promedio de temperatura en grados centígrados por periodo

Cuadro 32. Inicio de picaje externo (PE), término y duración de ventana de nacimientos de pollitos provenientes de huevos de gallina reproductora pesada de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación limitada *	Ventilación Estándar
Inicio PE (Horas)**	492.0 ± 0.0 ^B	503.5 ± 9.84 ^A
Término de nacimientos (Horas)**	541.0 ± 8.71 ^A	544.5 ± 4.43 ^A
Duración ventana (Horas)**	49.0 ± 8.07 ^A	41.0 ± 6.85 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos. n= 3

Cuadro 33. Calidad, peso y longitud de los pollitos provenientes de huevos de gallina reproductora pesada de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Concepto	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Excelente (%)** Ψ	0 \pm 0	0 \pm 0
Bueno (%)** Ψ	28.96 \pm 11.22 ^A	24.30 \pm 10.30 ^A
Regular (%)** Ψ	47.89 \pm 13.71 ^A	20.83 \pm 14.43 ^B
Deficiente (%)** Ψ	20.63 \pm 13.89 ^B	48.61 \pm 17.89 ^A
Inaceptable (%)** Ψ	2.50 \pm 5.0 ^A	6.25 \pm 7.21 ^A
Peso del pollito(g)** Φ	43.41 \pm 1.84 ^A	41.51 \pm 1.58 ^B
Longitud del pollito(cm)** Φ	17.48 \pm 0.96 ^A	17.20 \pm 0.60 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 8.5 días de desarrollo embrionario.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido \pm desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.

Ψ n= 4 Φ n= 32

Cuadro 34. Concentración de O₂ (%) y CO₂ (ppm) de huevos fértiles de Ross 308 de 37 semanas incubados bajo condiciones de aumento gradual de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario.

Día de incubación	Ambiente		Concentraciones de O ₂ **		Concentraciones de CO ₂ **	
	O ₂	CO ₂	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar	Ventilación Limitada *	Ventilación Estándar
Día 1	19.90 ± 0.2 ^{A*}	993.3 ± 85.04	0 ± 0 ^{***}	19.78 ± 0.14	0 ± 0 ^{***}	1,125.83 ± 87.32
Día 2	20.06 ± 0.05 ^A	1,473.3 ± 340.78	0 ± 0	19.95 ± 0.12	0 ± 0	1,058.33 ± 184.87
Día 3	20.0 ± 0 ^A	533.3 ± 46.18	0 ± 0	19.84 ± 0.13	0 ± 0	760.83 ± 62.01
Día 4	19.80 ± 0.1 ^A	900.0 ± 70.0	0 ± 0	19.72 ± 0.14	0 ± 0	1,025.0 ± 198.78
Día 5	19.83 ± 0.11 ^A	950.0 ± 98.48	0 ± 0	19.75 ± 0.06	0 ± 0	1,193.33 ± 58.51
Día 6	19.86 ± 0.05 ^A	963.33 ± 35.11 ^{BCD}	0 ± 0	19.74 ± 0.06	0 ± 0	1,278.33 ± 229.74
Día 7	19.83 ± 0.05 ^A	940.0 ± 165.22 ^{BCD}	0 ± 0	19.71 ± 0.08	0 ± 0	1,307.50 ± 232.85
Día 8	19.86 ± 0.05 ^A	953.14 ± 15.17 ^{BCD}	0 ± 0	19.70 ± 0.05	0 ± 0	1,387.50 ± 81.47
Día 9	19.90 ± 0.10 ^A	1,473.33 ± 340.78 ^A	0 ± 0	19.70 ± 0.18	0 ± 0	1,240.0 ± 93.71
Día 10	19.96 ± 0.11 ^A	1,206.67 ± 90.18 ^{ABC}	19.55 ± 0.20 ^B	19.85 ± 0.09 ^A	8,780.0 ± 1615.53 ^A	1,339.17 ± 159.85 ^B
Día 11	19.86 ± 0.05 ^A	1,003.33 ± 35.11 ^{ABCD}	19.60 ± 0.07 ^A	19.63 ± 0.08 ^A	1,954.17 ± 140.4 ^A	1,901.67 ± 87.16 ^A
Día 12	19.90 ± 0 ^A	1,000.0 ± 36.05 ^{ABCD}	19.64 ± 0.11 ^A	19.73 ± 0.04 ^A	2,025.83 ± 356.43 ^A	1,852.50 ± 235.99 ^A
Día 13	19.86 ± 0.11 ^A	1,056.67 ± 40.41 ^{ABC}	19.50 ± 0.21 ^A	19.65 ± 0.16 ^A	2,615.83 ± 243.02 ^A	2,345.83 ± 87.0 ^B
Día 14	19.80 ± 0 ^A	1,260.0 ± 121.65 ^{AB}	19.59 ± 0.09 ^A	19.61 ± 0.10 ^A	3,447.50 ± 313.08 ^A	3,164.17 ± 212.23 ^B
Día 15	19.83 ± 0.20 ^A	1,206.67 ± 95.04 ^{ABC}	19.71 ± 0.07 ^A	19.67 ± 0.06 ^A	3,562.50 ± 265.26 ^A	3,338.33 ± 274.32 ^A
Día 16	20.0 ± 0 ^A	770.0 ± 43.58 ^{CD}	19.78 ± 0.10 ^A	19.80 ± 0.12 ^A	3,886.67 ± 403.92 ^A	3,605.0 ± 332.79 ^A
Día 17	19.86 ± 0.11 ^A	890.0 ± 268.88 ^{BCD}	19.75 ± 0.25 ^A	19.82 ± 0.04 ^A	3,535.0 ± 257.13 ^A	3,333.33 ± 460.65 ^A
Día 18	19.83 ± 0.05 ^A	1,240.0 ± 233.88 ^{ABC}	19.47 ± 0.22 ^A	19.51 ± 0.22 ^A	3,956.67 ± 551.74 ^A	3,825.56 ± 568.22 ^A
Día 19	19.96 ± 0.05 ^A	920.0 ± 225.23 ^{BCD}	19.35 ± 0.14 ^A	19.41 ± 0.17 ^A	3,240.8 ± 311.78 ^A	3,107.78 ± 259.26 ^A
Día 20	19.86 ± 0.05 ^A	1,040.0 ± 65.57 ^{ABCD}	19.55 ± 0.11 ^A	19.48 ± 0.09 ^A	3,130.0 ± 300.18 ^A	2,941.11 ± 528.85 ^A
Día 21	19.83 ± 0.05 ^A	1,063.33 ± 152.4 ^{DEFG}	19.45 ± 0.13 ^A	19.46 ± 0.07 ^A	3,490.0 ± 267.61 ^A	2,934.44 ± 207.19 ^B

□ Concentraciones indetectables por el sensor ANALOX®

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días de incubación, debido al sellado no se pudo medir O₂ y CO₂ en este periodo.

**Literales diferentes en superíndice del valor referido ± desviación estándar comparadas en la misma fila indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos.