



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ANALISIS DE LA PRESENCIA DE CUTICULA DE
HUEVOS DE GALLINA LEGHORN DURANTE
LA INCUBACION

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR

HUGO ARTURO MEZA TORRES
ASESORES

MVZ. EZEQUIEL SANCHEZ RAMIREZ

MVZ. JOSE ANTONIO QUINTANA LOPEZ

DR. ENRIQUE PEDERNERA ASTEGIANO



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

C O N T E N I D O

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVO.....	8
MATERIAL Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	14
DISCUSION.....	17
CONCLUSIONES.....	21
TABLAS Y FIGURAS.....	22
LITERATURA CITADA.....	31

RESUMEN

Meza Torres Hugo Arturo. ANALISIS DE LA PRESENCIA DE CUTICULA DE HUEVOS DE GALLINA LEGHORN DURANTE LA INCUBACION.

Asesores: MVZ. Ezequiel Sánchez Ramírez, MVZ. José Antonio Quintana López y Dr. Enrique Pedernera Astegiano.

Se sabe que el cascarón del huevo de las aves es un medio de comunicación entre el embrión y el ambiente externo, presenta una estructura llamada cutícula que forma una capa protectora contra la invasión microbiana, es la placa más externa y esta constituida por proteínas, lípidos y carbohidratos. Se cuantifico la concentración de proteína hidrosoluble de la cutícula de 245 huevos fértiles de gallina Leghorn, por el método de Lowry modificado por Peterson. La cuantificación de proteínas de la cutícula se realizo a los días 0, 2, 4, 6, 8, 11, 14 y 17 de incubación. Además se utilizó un grupo control constituido de 10 huevos a los 0 días de incubación con iguales características que los anteriores, a éste grupo se le extrajo la proteína total de la cutícula siguiendo el método utilizado por Wedral y cols. en 1974, cuantificando la cutícula por el método de lowry modificado por Markwell. También se determinó el contenido total de materia orgánica del cascarón a los 0 días de incubación. Los huevos se incubaron a una temperatura de 37.7° C y una humedad relativa de 60%. Los promedios fueron analizados por la prueba de Duncan para contrastar cada grupo experimental y además se realizó la prueba de regresión y correlación lineal simple. Los resultados fueron: a) La cutícula esta compuesta por proteínas con diferentes propiedades de solubilidad, b) el cascarón esta compuesto por 98.35% de cenizas y 1.65% de materia orgánica, c) el 67% de la materia orgánica corresponde a la fracción proteica d) Durante el intervalo de los 0 a los 4 días de incubación la cantidad de proteína hidrosoluble de la cutícula presento un incremento, e) después del cuarto día de incubación la concentración de proteína hidrosoluble de la cutícula inicia un decremento, f) a los 17 días de incubación se obtuvo la concentración más baja en la recuperación de proteína hidrosoluble de la cutícula, g) la prueba estadística de Duncan y análisis de varianza demostraron diferencia significativa a los días de incubación 0, 4, 6 y 17 de incubación y h) la prueba estadística de regresión resulto altamente significativa ($P < 0.01$), y la correlación fue inversamente proporcional al tiempo de incubación ($r = - 0.78$). La cutícula esta compuesta por proteínas con diferentes propiedades de solubilidad, y la parte de la cutícula compuesta por proteínas hidrosolubles inicia su decremento a partir del cuarto día de incubación.

I N T R O D U C I O N

La producción de huevo incubable, libre de contaminantes que asegure la obtención de pollo recién nacido de buena calidad, ha sido una preocupación y un objetivo constante de la industria avícola (14). El huevo presenta diferentes estructuras que impiden la entrada de microorganismos al interior, que en el caso de huevos fértiles constituye una importante defensa para el embrión en desarrollo (13). Un huevo con mala calidad del cascarón es más susceptible a la penetración de bacterias y hongos lo que puede traducirse en problemas de salud pública y graves pérdidas económicas para la industria productora de huevo para plato y pollo (6,7,8).

El cascarón está cubierto por una estructura llamada cutícula que forma una capa protectora con un espesor de 10 a 30 micras distribuida en forma irregular y adherida a la parte calcificada del cascarón (9); es la placa más externa y esta compuesta de materia orgánica llamada mucina. Se introduce en los poros que existen en la superficie y forma tapones que sellan la entrada al huevo (4); su función es impedir la entrada de partículas líquidas o sólidas y así evitar la invasión microbiana al interior del huevo (4,23).

La presencia de cutícula en el cascarón constituye la primera y más importante barrera contra la invasión bacteriana (15).

Mediante microscopía electrónica, la cutícula parece estar formada por dos estratos, uno adyacente al cascarón de apariencia espumosa y otro externo de apariencia compacta (9,12). La cutícula está compuesta aproximadamente en un 90% de proteínas con un alto contenido en glicina, ácido glutámico, lisina, cisteína y tirosina. La hexosamina, galactosa, manosa y fructosa están presentes como constituyentes de los polisacáridos (20), posiblemente se encuentre un poco de material lipídico (3,6).

La síntesis de cutícula se realiza en la fase final de la formación del huevo al pasar por las glándulas vaginales, las cuales contienen lípidos y ésteres de la colessterina. También existe la evidencia de que las células basales del cuerpo del útero pueden intervenir en la formación de ésta (19).

Han sido varios los investigadores que han hablado sobre la cutícula: Cattaneo en 1877, menciona sobre la infiltración de bacterias al cascarón (4), Nathasius en 1894 comenta que la cutícula era lo que le daba la pigmentación al cascarón (18), Romanoff y Romanoff en 1931 fueron los primeros investigadores en este siglo, en mencionar que la cutícula participa en la protección del cascarón contra los microorganismos (4).

Lorenz y Starr en 1952 observaron que al lavar los huevos estos sufrían un daño bacteriano, y en 1966 Simmons y Wiertz observaron que al lavar los huevos estos perdían parte de su cutícula (18).

Lack, en 1968 mencionó que la cutícula es sólo una adaptación de los huevos puestos en lugares húmedos; Board en 1952 sugirió que desde el punto de vista de la difusión gaseosa, la cutícula del huevo puede ser considerada como una vía de difusión y de resistencia, y que las modificaciones de la superficie externa del cascarón, son adaptaciones que aseguran una difusión gaseosa óptima en lugares que contengan detritus que pudieran ocluir los canales de los poros (2).

Board y Halls en 1972 realizaron un estudio en donde observaron que la cutícula actúa como barrera para el paso de líquidos y demostraron por medio de la tinción de la cutícula que el 3.5% de los huevos examinados no presentaban ésta y el 8% del total no tenían cutícula en alguno de sus polos (4). Ball, Logan y Hill en 1975, observaron que algunas gallinas en forma persistente ponían huevos con falta de cutícula en alguno de sus polos; también observaron que cuando una gallina ponía durante cuatro días seguidos, los huevos tenían una cutícula uniforme, pero cuando dentro del período había una interrupción en el segundo o tercer día, el último huevo puesto antes de la interrupción tenía una mejor cutícula que el primer huevo puesto después de la interrupción (2).

Board en 1975 sugirió que la calidad de la cutícula tal vez sea hereditaria, y junto con Sparks encontraron que la baja calidad de la cutícula era característica de algunas gallinas viejas al final de su ciclo (22), Peebles y Brake en 1986 consideraron que los posibles cambios en la cantidad o morfología (como decremento en su grosor) durante el ciclo de producción podrían explicar sus observaciones de la disminución en la resistencia de la cutícula a la pérdida de vapor de agua conforme avanza la edad de la gallina (16).

Ball, Logan y Hill en 1974 estudiaron el comportamiento de la cutícula durante el almacenamiento y observaron que un grupo de huevos por 64 días a temperatura ambiente, encontraron que la cutícula se deterioró muy poco en los primeros 18 días después de la postura, después de ésta se observó una mayor disminución (de los 19 a los 35 días), para alcanzar el máximo deterioro de los 50 a los 64 días de almacenamiento. También se observó que a bajas temperaturas (5°C), los huevos almacenados durante 36 días solo se presentaba un ligero deterioro en la cutícula entre los 3 y 36 días (2).

Mayrén en 1991 en su estudio demostró que la integridad de la cutícula puede sufrir deterioro con agua, formol, glutaraldehído, ozono y agua destilada (11).

Rubio en 1992 realizó un trabajo, sobre la absorción de hormonas esteroidales (dehidroepiandrosterona) a través del cascarón durante la incubación; en donde se observó que la hormona se introduce al huevo describiendo graficamente una curva que se dividió en tres etapas; la primera etapa de absorción lenta durante los primeros cuatro días, la segunda etapa de absorción rápida que comprende del día 4 al 10, y la tercera etapa de absorción lenta que va de los 11 a los 21 días de incubación (17), esto puede explicar que durante los primeros días de incubación la cutícula está íntegra, lo que hace al huevo impermeable y se modifica conforme avanza la incubación por el deterioro natural de la cutícula (1,2).

H I P O T E S I S

La concentración de proteína hidrosoluble que forma la cutícula se reduce con el tiempo de incubación: A mayor tiempo de incubación, la concentración de proteínas de la cutícula disminuye.

O B J E T I V O

Evaluar la disminución de proteínas hidrosolubles de la cutícula durante la incubación.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

I. GRUPOS EXPERIMENTALES.

Se emplearon 85 huevos de gallina de raza Leghorn que se recolectaron dentro de los tres días posteriores a la postura y sin fumigar, obtenidos del C.E.I.E.P.A. de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. los cuales se incubaron a 37.7°C con una humedad relativa de 60%, se dividieron en 8 grupos de 10 huevos cada uno, y los 5 restantes se utilizaron para las muestras de microscopia electrónica de barrido correspondiente a los días 0, 4, 8, 14 y 17 de incubación.

grupo	días de incubación	número de huevos
I	0	10
II	2	10
III	4	10
IV	6	10
V	8	10
VI	11	10
VII	14	10
VIII	17	10

Con la finalidad de validar el método de extracción de la proteína hidrosoluble se incluyó un grupo control al día 0

de incubación donde se emplearon 10 huevos fértiles de gallina de la misma raza con iguales características que los anteriores. Cada cascarón se trato individualmente extrayéndole las membranas interna y externa además de lijar la porción mamilar; la proteína se extrajo según el método de Wedra, Vadehra y Baker (24), la cuantificación de proteínas se realizo por el método de Lowry modificado por Markwell (11).

Además se peso un lote de 18 huevos tomados al azar para verificar la variación de pesos y tamaños.

Para determinar la cantidad de materia orgánica de una muestra de cascarón ésta se proceso extrayéndole las membranas interna, externa y lijando la porción mamilar, después se peso y se coloco en un crisol de porcelana tarado. Se metió el crisol en una estufa 48 horas a 60° C, inmediatamente después se introdujo en una mufla a 600° C por 48 horas para después volver a pesar y destarar el peso del crisol.

II. EXTRACCION DE LA CUTICULA.

Para obtener muestras por duplicado los grupos se subdividieron en 2 lotes de 5 huevos cada uno. Cada lote se lavó por separado en un mismo recipiente, huevo por huevo con agua procesada en un equipo MILLI-RO 10 PLUS COMPACTO, lo que garantiza su pureza, para el lavado de cada lote, se empleo un volúmen inicial de 2000 microlitros, cada huevo se lavó durante 5 minutos, al termino de este tiempo, el huevo en

turno se enjuagó con 200 microlitros más, para arrastrar los restos de cutícula que pudieran estar adheridos al cascarón. El volúmen final de los grupos fue entre 1400 a 1800 microlitros.

Obteniendo las muestras de los 2 lotes, se centrifugaron a 4000 rpm, durante 20 minutos a una temperatura de 23°C. Después de la centrifugación se trabajó sólo con el sobrenadante, recuperando un volúmen de 1000 a 1400 microlitros.

III. CUANTIFICACION DE PROTEINAS.

Para la cuantificación de proteínas, se utilizó el método de Lowry modificado por Peterson (5).

El volúmen de la muestra que se utilizó para realizar este método fue de 200 microlitros.

Para poder determinar la concentración de proteína total de las muestras, requerimos de una curva patrón de albúmina sérica de bovino, en la cual las concentraciones fueron conocidas y por lo tanto, con sus lecturas en el espectrofotómetro nos permitió la extrapolación de nuestros datos. Para el calculo final se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Microgramos de proteína} * \frac{\text{volumen del grupo lavado}}{\text{volumen de la muestra} * \text{núm. de huevos}} = \text{Microgramos de proteína por huevo}$$

IV. OBSERVACION DE LA CUTICULA MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRONICA.

Se tomaron porciones de los cascarones previamente incubados. Las muestras se fracturaron con la ayuda de unas pinzas de disección. El tamaño de las muestras fue aproximadamente de 4 mm.

Las muestras que se tomaron fueron de los días de incubación: 0, 4, 8, 14 y 17. Por cada día de incubación se tomaron 2 muestras, una de ellas lavada y otra sin lavar.

día de incubación	Número de muestras (lavada y no lavada)
0	2
4	2
8	2
14	2
17	2

Bajo el microscopio estereoscópico se orientaron las muestras de tal forma que se obtuviera una imagen transversal del grosor del cascarón y se pegaron a la platina del microscopio electrónico de barrido con pintura de plata conductora. Estas muestras se recubrieron con oro en un ionizador Jeol; y se observaron en un microscopio electrónico de barrido Jeol JMS-35.

Las placas que se utilizaron fueron Ilford de 12.2 por 12.7 cm, y se revelaron con HC 110.

V. ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados se analizaron estadísticamente por medio de la prueba de análisis de varianza (ANDEVA), la prueba de Duncan para contrastar a cada grupo experimental y además se realizó la prueba de regresión y correlación lineal simple, donde la variable independiente fue el tiempo de incubación y la variable dependiente la concentración de proteínas (microgramos). Se utilizó el Software Statistic Analysis Systems (SAS).

RESULTADOS

El contenido de materia orgánica de las muestras de cascarrón del grupo control al día 0 de incubación fue de 1.65 % , siendo 98.35 % el contenido de cenizas. El promedio de los 18 huevos que se pesaron fue de 62.92 gramos con una desviación estándar de 4.59 gramos.

Para el grupo control a los 0 días de incubación el promedio resultante de la proteína total fue de 11.13 mg con una desviación estándar de ± 2.14 mg. Siendo esto el 67.5% de la materia orgánica total. (Tabla 1).

Analizando la tabla 2 podemos observar que la proteína soluble va en aumento desde el tiempo 0 hasta el cuarto día; a partir de este se inicia un proceso de disminución paulatina en la concentración de la proteína que llega a ser de aproximadamente 50% en el día 17 de incubación respecto al tiempo 0.

En el primer grupo experimental a los 0 días de incubación se obtuvo un valor promedio de 68.483 microgramos de proteína por huevo. (Para la obtención de este valor se utilizó un número de 6 subgrupos con 5 huevos cada subgrupo).

Al día 2 de incubación se recuperó un promedio de 70.433 microgramos de proteína por huevo. Existe un aumento significativo a los 4 días de incubación, obteniendo 80.733 microgramos de proteína por huevo. (Tabla 2, Figura 1).

A los 6 días de incubación el promedio del cuarto grupo experimental fue de 52.458 microgramos de proteína por huevo. Por primera vez en el desarrollo del experimento la cantidad de proteína por huevo tuvo un descenso. (Tabla 2, Figura 1).

El promedio calculado para el quinto grupo experimental a los 8 días de incubación fue de 50.533 microgramos de proteína por huevo. A los 11 días de incubación el valor promedio del sexto grupo experimental fue de 40.725 microgramos de proteína por huevo.

El promedio resultante en el séptimo grupo experimental a los 14 días de incubación fue de 36.600 microgramos de proteína por huevo. (Se utilizó un total de 20 huevos, divididos en 4 subgrupos de 5 huevos cada uno). Para el octavo grupo experimental a los 17 días de incubación se calculó un promedio de 28.000 microgramos de proteína por huevo, resultando este valor el más bajo en todo el experimento, con una reducción de 2.883 veces con respecto al valor del día 4.

La figura 4 muestra que la prueba estadística de los días 0, 2, 4, 6, 8, 11, 14 y 17 de incubación presenta una regresión altamente significativa ($p < 0.01$), donde la disminución en la concentración de proteínas es de 2.73 microgramos de proteína por día de incubación, presentando una correlación inversamente proporcional al tiempo de incubación ($r = - 0.78$).

Las observaciones con microscopia electrónica de barrido demostraron que durante los días de incubación que duró el experimento, hay presencia de cutícula sobre el cascarón de huevos lavados como no lavados.(Figuras 5 y 6).

En todas las micrografías la cutícula presenta una morfología vesicular con tendencia a presentar en la parte más externa una forma más compacta, y por lo contrario el estrato de cutícula adyacente al cascarón tiene una apariencia más esponjosa.(Figura 5).

En la superficie de toda la cutícula, ésta presenta innumerables fisuras que conectan a los poros del cascarón con el medio ambiente.(Figura 7, 8 y 9).

DISCUSION

En función de los resultados obtenidos en el grupo control (Tabla 1), se observó que existe una variación considerable de tamaño y peso por lo que la proteína obtenida a lo largo de la fase experimental presenta variaciones similares.

Las proteínas de la cutícula dependiendo de su solubilidad en agua u otras sustancias fue estudiado por Wedral, Vadehra y Baker en 1974, mismos que en su estudio mencionaron que el total de proteínas que forman a la cutícula varía de 85% a 87%, de este total el 3% son proteínas hidrosolubles, siendo del 13% al 15% restante lípidos y carbohidratos (24).

El método utilizado para la extracción de la cutícula a base de lavado con agua, permitió obtener el 4.63% del total de la proteína hidrosoluble.

El total de materia orgánica presente en los cascarones es de 1.65% y el peso promedio de un cascarón es de 4.440 g, por lo que el 1.65% corresponde a 73.26 mg de materia orgánica.

La concentración promedio de proteína total (11.13 mg \pm 2.14 mg) (Tabla 1) obtenido por el método de Lowry modificado por Markwell (10) correspondió al 67.5% del total de materia orgánica que es igual a 49.45 mg; valor que difiere de lo reportado por Wedral y cols. muy probablemente por que la determinación a partir del contenido de nitrógeno multiplicado por un factor de 6.25 es menos sensible que el método aquí utilizado.

De lo anterior y considerando que en el grupo experimental al día 0 de incubación se obtuvo un promedio de 68.483 ug, este valor corresponde al 4.63% de la proteína soluble en agua que esperaríamos a partir de los resultados obtenidos por Wedral y cols. (24).

Así al cuantificar las proteínas de la cutícula al día 0, 2 y 4, se observa que las proteínas hidrosolubles aumentan, pero después del cuarto día la cantidad de proteína inicia un decremento que no cesa hasta los 17 días de incubación.

Una de las posibilidades que se considero para explicar el aumento de proteínas a los días 4 de incubación es que posiblemente se produzca una hidratación de proteínas debido al ambiente interno de la incubadora, lo que facilita su recuperación en el lavado.

La observación mediante microscopia electrónica de barrido evidenció que la cutícula no se deteriora totalmente a lo largo de la incubación como se había pensado al inicio del trabajo. Tal parece que la porción de cutícula que

logramos disolver, corresponde sólo a la porción soluble de ésta ya que durante los 17 días que duro el experimento siempre se observa la presencia de cutícula. De igual forma se observo que la cutícula no se deposita en forma constante sobre el cascarón, si no que existe una mayor deposición de cutícula alrededor de los poros, y que la cutícula presenta una morfología vesicular con aeroespacios entre las vesículas tal como lo observo Simons y Wiertz.(18). (Figura 5).

En nuestro estudio se observaron los dos estratos que forman a la cutícula siendo el más externo de apariencia compacta y el adyacente al cascarón de apariencia esponjosa (9,12).(Figuras 5 y 8).

Por otra parte, se considero que la presencia de las proteínas solubles en la cutícula parece que tienen un papel importante en la permeabilidad del cascarón durante los primeros días de incubación, ya que como se observó en el trabajo de Rubio (1992) la dehidroepiandrosterona se introduce en el huevo en forma lenta durante los primeros cuatro días de incubación que se relaciona perfectamente con las altas concentraciones de proteína encontrada. Siguiendo la cinética de absorción de la hormona entre los 4 y 10 días estos autores señalan que corresponde este período a una fase de rápida penetración del esteroide al interior del huevo, lo que podemos relacionarlo con la disminución en la concentración de proteínas.(17,23).

Sería interesante realizar trabajos que complementen esta investigación y conocer con exactitud porque a los

cuatro días de incubación se inicia el descenso en la concentración de proteínas de la cutícula, y saber si estos cambios están relacionados con el inicio de la respiración embrionaria.

C O N C L U S I O N E S

1.- El cascarón esta compuesto por un 98.35% de cenizas y el restante 1.65% corresponde a materia orgánica.

2.- El 67% de la materia orgánica corresponde a la fracción proteica.

3.- La cutícula esta compuesta por proteínas con diferentes propiedades de solubilidad.

4.- La cutícula no se deposita en forma homogénea sobre el cascarón.

5.- Las proteínas de la cutícula poseen una forma vesicular y entre estas vesículas existen espacios conteniendo aire.

6.- La concentración de proteína hidrosoluble empieza a decrecer a partir del cuarto día de incubación.

7.- La permeabilidad del cascarón se puede relacionar con la presencia de proteínas hidrosolubles en la cutícula.

GRUPO CONTROL A LOS CERO DIAS DE INCUBACION

mg de proteína huevo	Promedio del grupo	Desviación estandar del grupo
8.90		
9.50		
9.50		
10.21	11.13 mg	2.14 mg
10.32		
12.37		
13.60		
14.67		

Peso en gramos del gpo control	Promedio del grupo	Desviación estandar del grupo
56.4		
57.6		
58.1		
59.1		
59.5		
59.7		
60.3		
61.5	62.92 g	4.59 g
62.2		
63.0		
64.1		
64.3		
64.6		
65.2		
65.6		
67.2		
69.4		
74.7		

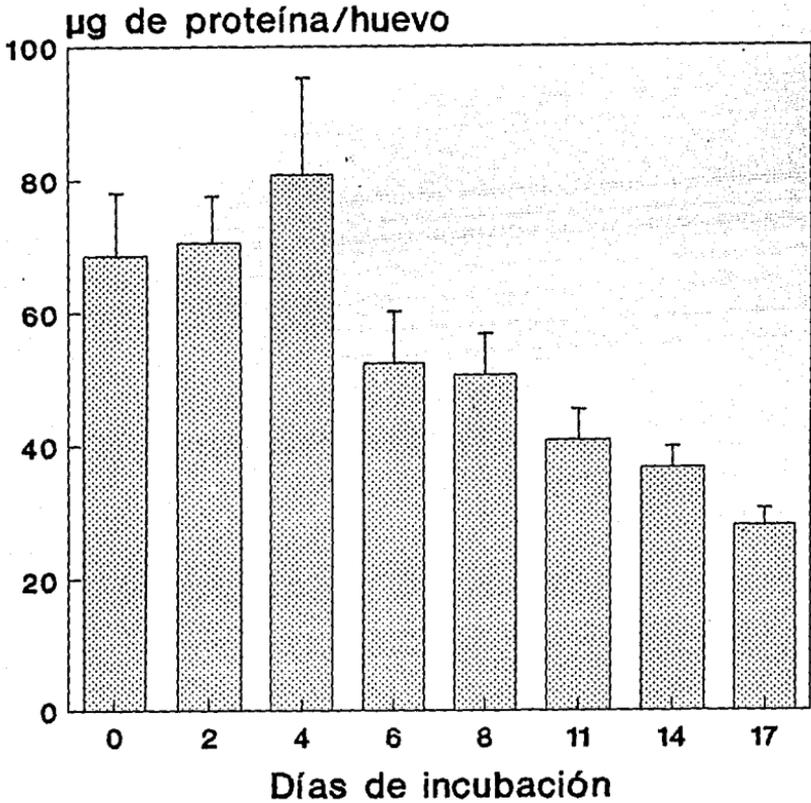
Tabla 1

**PROMEDIOS Y DESVIACION ESTANDAR DE LOS GRUPOS
EXPERIMENTALES**

Días de incubación	n	ug de prot huevo	Gpo	Significancia estadística
0	6	68.48 ± 9.12	1	a
2	6	70.43 ± 6.77	2	a,b
4	6	80.73 ± 14.60	3	b
6	6	52.48 ± 7.76	4	c
8	6	50.53 ± 6.56	5	c,d
11	6	40.72 ± 4.84	6	d,e
14	6	36.60 ± 3.11	7	e,f
17	6	28.00 ± 2.91	8	f

Los grupos con una sola letra son estadísticamente significativos $P < 0.05$

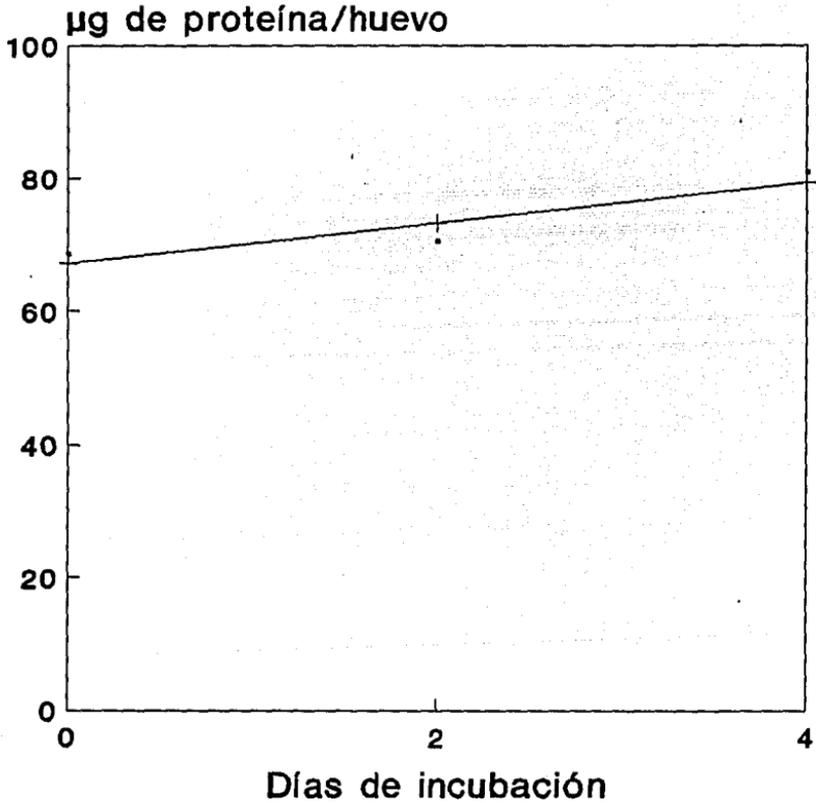
Análisis de varianza de la concentración de proteínas en la cutícula



$P < 0.05$

Figura1

Correlación entre los días de incubación y concentración de proteínas en cutícula

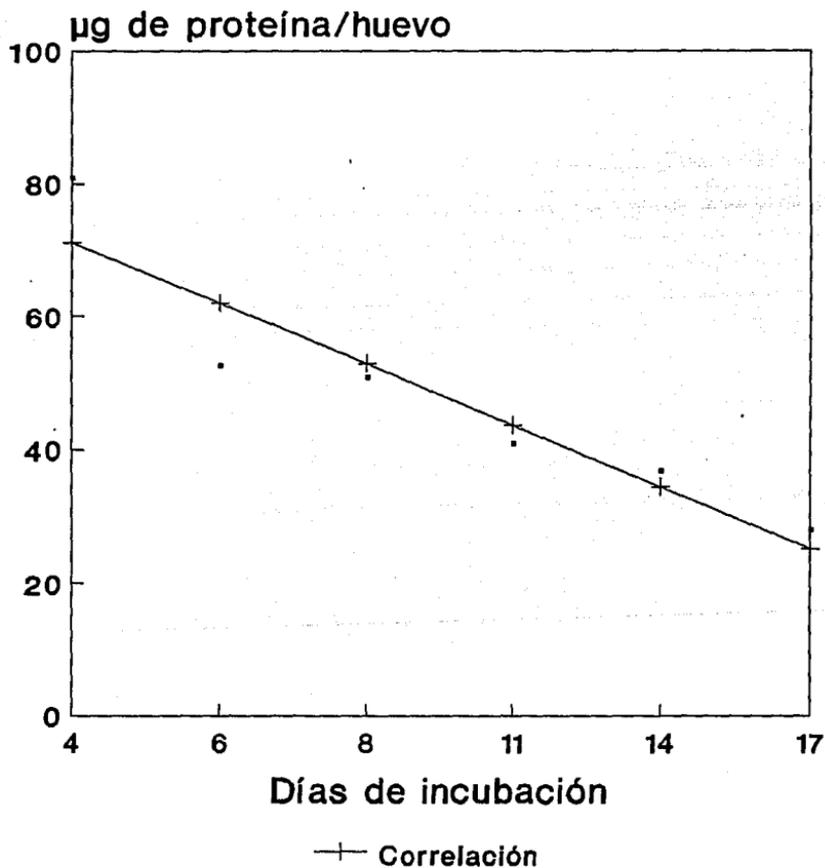


—+— Correlación

$P < 0.05, r=0.90$

Figura 2

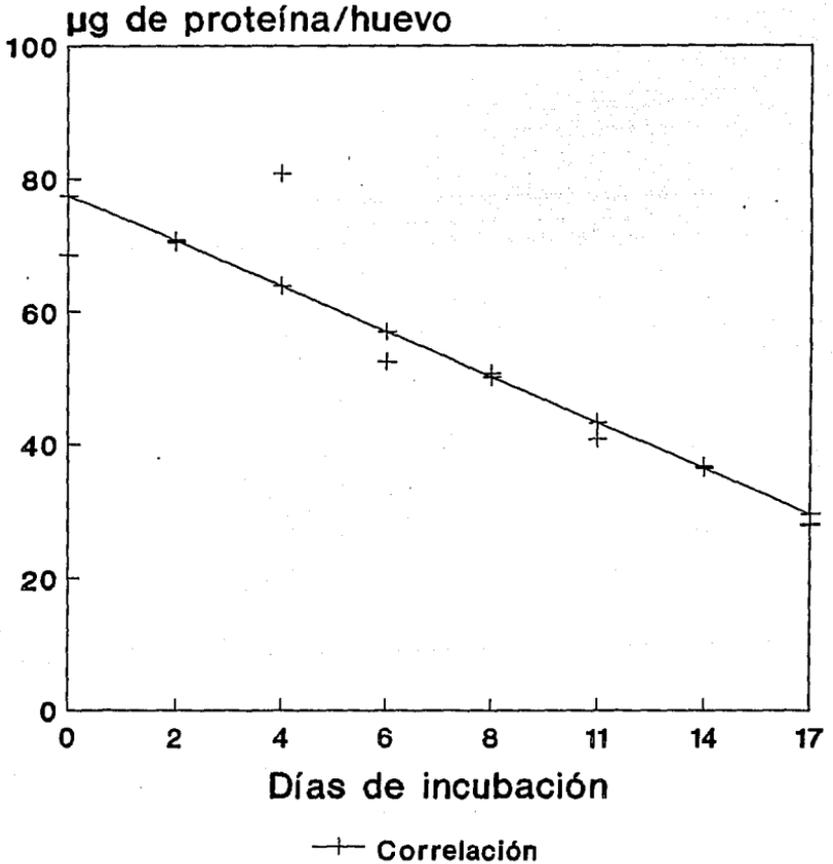
Correlación entre los días de incubación y concentración de proteínas en cutícula



$P < 0.05, r = -0.98$

Figura 3

Correlación entre los días de incubación y concentración de proteínas en cutícula



$P < 0.01, r = -0.78$

Figura 4

Figura 5
Micrografía electrónica de
barrido de cascarón de huevo
de gallina Leghorn a los 17
días de incubación, después
de lavar.
(3000 X)



Figura 6
Micrografía electrónica de
barrido de huevo de gallina
Leghorn a los 0 días de
incubación, antes de lavar.
(3000 X)



Figura 7
Micrografía electrónica de
barrido de gallina Leghorn
a los 8 días de incubación,
antes de lavar en donde
muestra varias fisuras en
la superficie de la cutícula.
(3000 X)



Figura 8
Micrografía electrónica de
barrido de huevo de gallina
Leghorn a los 4 días de incu-
bación después de lavar en
donde muestra múltiples fisu-
ras en la superficie de la
cutícula.
(3000 X)



Figura 9
Micrografía electrónica de
barrido de huevo de gallina
a los 14 días de incubación,
antes de lavar en donde
muestra un poro cortado lon-
gitudinalmente.
(540 X)



L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Baker, J. R. and Balch, D. A.: A study of the organic materia of the hen's eggshell. Biochem. J., 82: 245-256 (1964).
- 2.- Ball, R. F., Logan, V. and Hill, J. F.: Factors affecting the cuticle of the egg as measured by intensity of staining. Poult. Sci., 54: 1479-1484 (1975).
- 3.- Bell, D. F. and Freeman, B. M.: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. 1^a ed. Academic Press. New York., 1971.
- 4.- Board, R. G. and Halls, N. A.: The cuticle: a barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. Br. Poult. Sci., 14: 69-97 (1973).
- 5.- Bollag, M. D. and Edelstein, S. J.: Protein methods. 1^a ed. Wiley - Liss New York., 1991.
- 6.- Britton, W. M.: Shell membranes of eggs differing in shell quality from young and old hen's. Poult. Sci., 56: 647-653 (1977).
- 7.- Essary, E. O., Sheldon, B. W. and Crews, S. L.: Relation ship between shell and shell membranes strength and other egg shell characteristics. Poult. Sci., 56: 1882-1888 (1977).
- 8.- Kuhl, H. Y.: Washing and sanniting hatching eggs. Inter. Hatchery Pract., 3: 29-33 (1989).

- 9.- Leach, R. M. Jr.: Biochemistry of the organic matrix of the egg shell. Poult. Sci., 61: 2040-2047 (1982).
- 10.- Markwell, M. A. K., Jass, S. M. and Tolbert, N. E.: Determinations of membrane proteins and lipoproteins in some specimens. Anal. Biochem., 87: 206-210 (1978).
- 11.- Mayrén, S. R.: Efecto de tres desinfectantes sobre la integridad de la cutícula de huevos incubables de gallinas de raza Leghorn. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 1991.
- 12.- Meir, M. A. and Nir, A.: Preincubation dipping of turkey eggs. Does it affect eggshell conductance. Poult. Sci., 63: 2475-2478 (1984).
- 13.- North, M. O.: Manual de producción avícola 2ª ed. Manual Moderno. México, D.F. 1986.
- 14.- Padrón, N. M.: Calidad microbiológica del huevo incubable. Avicultura Profesional., 9: 173-178 (1992).
- 15.- Padrón, N. M.: Factores que influyen la penetración de las bacterias a través del cascarón. I Curso de manejo para la prevención de problemas aviarios. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Producción Animal: Aves. México D.F.: 1989. 79-83. Fac. de Med. Vet. y Zoot. DPA: Aves. México D.F. (1989).
- 16.- Peebles, E. D. and Brake, J.: The role of the cuticle in water vapor conductance by the eggshell of broiler breeders. Poult. Sci., 65: 1034-1039 (1986).

- 17.- Rubio, L. M.: Absorción de dehidroepiandrosterona a través del cascarón de huevo de gallina durante la incubación. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.: 1992.
- 18.- Simons, P. C. M. and Wiertz, G.: The ultra-structure of the surface of the cuticle of the hen's egg in relation to egg cleaning. Poult. Sci., 45: 1153-1162 (1966).
- 19.- Sisson, S. y Grossman, J. D.: Anatomía de los animales domésticos. 5ª. ed. Salvat. México D.F., 1982.
- 20.- Stadelman, W. J. and Coterill, O. J.: Egg Science and Technology. 2nd. ed. Avi. Publishing Co. Connecticut, 1977.
- 21.- Steel, R. G. C. and Torrie, H. J.: Principles and procedures of statistics a biometrical approach. Second edition Mc. Graw Hill Book Co. 1989.
- 22.- Snedecor, W. G. and Cochran, W. G.: Statistical methods. Eight edition. Iowa State University Press/AMES. 1991.
- 23.- Sparks, N. H. C. and Board, R. G.: Cuticle shell porosity and water uptake through hen's egg shell. Br. Poult. Sci., 25: 267-276 (1984).
- 24.- Wedral, E. M., Vadehra, D. V. and Baker, R. C.: Chemical composition of the cuticle, and the inner and outer shell membranes from eggs of *Gallus gallus*. Comparative Biochemistry and Physiology., 47B: 631-640 (1974).