

Universidad Nacional Autónoma De México

“Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia”



“Desarrollo embrionario durante la incubación con incremento gradual de CO_2 en huevos de aves domésticas (*Gallus gallus*) con un sellado artificial temporal de los poros del cascarón”

Tesis

Que para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

Presenta

Pedro Soria León

Asesor:

M.V.Z. M.C. Marco Antonio Juárez Estrada



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.

Agradecimientos

Gracias quiero dar al divino Laberinto de los efectos y de las causas
Por mis padres, fuente de apoyo e infinita paciencia,
Por mi hermana, su amor y su comprensión,
Por mi novia, que me deja ver la vida como la ve la divinidad,
Por el arte de la amistad,
Por la UNAM, que investiga, forma y desarrolla,
Por sus docentes, que guían y emiten conocimiento,
Por mis mascotas, que brindan compañía y alegría,
Por la diversidad de las criaturas que forman este singular universo,
Por la razón, que no cesará de soñar con un plano del laberinto,
Por el oro, que relumbra en los versos,
Por los ríos secretos e inmemoriales que convergen en mí,
Por el épico invierno,
Por el Barcelona de Messi,
Por las rayas del tigre,
Por las pirámides de Teotihuacán y de Egipto,
Por aquel sueño del Islam que abarcó mil noches y una noche,
Por Séneca y Lucano, de Córdoba
 Que antes del español escribieron
 Toda la literatura española,
Por el lenguaje, que puede simular la sabiduría,
Por el olvido, que anula o modifica el pasado,
Por la costumbre, que nos repite y nos confirma como un espejo,
Por la mañana, que nos depara la ilusión de un principio,
Por la noche, su tiniebla y su astronomía,
Por el valor y la felicidad de los otros,
Por los minutos que preceden al sueño,
Por el sueño y la muerte, esos dos tesoros ocultos,
Por los íntimos dones que no enumero,
Por la música, misteriosa forma del tiempo
Por el hecho de que el poema es inagotable
Y no llegará jamás al último verso.
Muchas gracias por todo.
Muchas gracias.
Pedro Soria León,
agradecido.

CONTENIDO

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
MATERIAL Y METODOS	15
RESULTADOS	22
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	43
LITERATURA CITADA	44
CUADROS	51

RESUMEN

PEDRO SORIA LEÓN. Desarrollo embrionario durante la incubación con incremento gradual de CO₂ en huevos de aves domésticas (*Gallus gallus*) con un sellado artificial temporal de los poros del cascarón. (Bajo la dirección de: M.V.Z. M.C. Marco Antonio Juárez Estrada)

Se evaluó el efecto de ventilación limitada o no ventilación (NV) durante la primera mitad de la incubación sobre el desarrollo embrionario (DE) y parámetros de incubación en huevos fértiles de gallinas reproductoras (*Gallus gallus*), con la finalidad de obtener un incremento gradual natural de CO₂. En el presente estudio, se utilizaron huevos de gallinas reproductoras (Ross 308) de 48 semanas de edad, en el cual se formaron dos grupos experimentales, aleatoriamente designados, la mitad se asignó a un grupo de ventilación limitada con la finalidad de obtener una concentración media de CO₂, el resto a una ventilación limitada más estricta para lograr una concentración alta de CO₂. El primer y segundo grupo de NV se acondicionó por medio de sellar con cinta de Polietileno (P) los *Damper* y *exhaucio*, de cada una de las dos máquinas. Después de los 10 días de DE todas las incubadoras cambiaron a condiciones de ventilación estándar hasta la eclosión. A su vez, cada tratamiento constó de tres grupos experimentales de ventilación con cutícula (2.5%, 5% y sin cutícula), cada uno de ellos contó con una repetición en cada una de las dos máquinas. El grupo de alta [CO₂] al día 10 DE mostró 15,000 ppm de [CO₂], mayor (P<0.05) a las 6,000 ppm de [CO₂] que presentó el grupo de media [CO₂]. Se obtuvo una mayor (P<0.05) incubabilidad (86.4% y 81.8%), en los grupos testigo, respecto a los que recibieron el tratamiento con cutícula. La natalidad mostro un comportamiento similar. El grupo de media [CO₂] con cutícula 2.5% mostró un menor crecimiento embrionario del día 10 al 18 DE, diferente (P<0.05) al resto de los grupos. La mortalidad embrionaria en los grupos sin cutícula, presentó una disminución paulatina para las etapas I, II, III y IV evaluadas respectivamente. La calidad del pollito fue mejor en los grupos testigo, que presentaron 60.2% y 50.0% de pollitos excelentes con alta y media [CO₂] en comparación con los grupos que recibieron el tratamiento, con 18.7% y 0.0% para los grupos de alta [CO₂] con cutícula 2.5% y 5% y 14.7% y 18.2% para los grupos de media [CO₂] con cutícula 2.5% y 5% respectivamente. Las condiciones de hipoxia e hipercapnia tempranas en embriones de reproductoras pesadas, durante los primeros 10 días de incubación favorecen el desarrollo del embrión, disminuyen la mortalidad embrionaria, la ventana de nacimientos y mejoran los parámetros de incubación y la calidad del pollito. Los efectos del incremento de CO₂ en la etapa temprana de incubación, varían en proporción a la conductancia que muestra el cascarón de los huevos fértiles de la parvada evaluada, la modificación experimental a la conductancia de los huevos incubados, efectuada al asperjar una cutícula artificial sobre, estos mostró efectos negativos en los parámetros analizados. La pérdida de peso no-lineal, es una opción positiva y complementaria a la incubación temprana con altas concentraciones de CO₂, ambas modificaciones a las variables de intercambio gaseoso son análogas a la incubación natural. El ambiente de las incubadoras con concentraciones de 0.9 a 1.5% de CO₂ durante la primera mitad del proceso incubatorio, son un factor clave que contribuye a mejorar el desarrollo embrionario, el cual a grandes altitudes sobre el nivel del mar se ve ampliamente favorecido.

Palabras clave: NATALIDAD, HIPERCAPNIA, DAMPER, EXHAUCIO, CUTÍCULA, ROSS 308.

INTRODUCCIÓN

El hombre ha sustituido la incubación natural por métodos artificiales, lo cual es un aspecto clave para el éxito actual de las operaciones avícolas, ya que gracias a ella se puede cubrir la gran demanda de aves para abastecer el mercado de productos de origen avícola (UNA, 2011).¹ Además del porcentaje de fertilidad de las aves que integran una parvada y del balance en nutrimentos de los componentes internos del huevo, la incubación depende directamente de la estructura física del cascarón, la cual se puede ver afectada por la edad, tipo de alimentación, salud y estirpe de las aves; sin descartar otros elementos que influyen directamente sobre la incubación, tales como la presión atmosférica, altura sobre el nivel del mar, disponibilidad de oxígeno, temperatura, humedad del sitio de incubación y grado tecnológico de las máquinas incubadoras (Juárez *et al*, 2003).²

Durante la incubación los huevos pierden agua en forma de vapor de agua a través de los poros del cascarón, lo cual constituye un proceso crucial para el desarrollo normal del embrión (Rahn y Ar, 1974).³ Debido a que la superficie del huevo no aumenta proporcionalmente a como se incrementa su volumen, se ha verificado que los huevos pequeños tienen el riesgo de deshidratarse y los huevos grandes de retener más agua de la apropiada (Paganelli *et al*, 1974).⁴ Posteriormente Meir y Ar (1987)⁵ determinaron que los huevos con baja conductancia del cascarón (<18.5 mg [100 g.día.Torr]) incubados a una humedad relativa estándar de la incubadora (55%) retienen agua y los de alta conductancia del cascarón (>22 mg [100 g.día.Torr]) pueden deshidratarse. Los géneros de la familia *Phasianidae*, ovopositan huevos con enorme diferencia en tamaño; existen varios mecanismos involucrados en lograr un balance entre la fuerza arquitectónica y geométrica del cascarón y la pérdida apropiada de agua durante la incubación, en comparación a los huevos pequeños los huevos grandes

usualmente son ovopositados por las especies de aves mayores, lo cual da como resultado que tengan una mayor cantidad de poros por área, tengan más pérdida de agua diaria y una mayor conductancia del cascarón de lo que podría esperarse si existiera un incremento geométrico por escalamiento proporcional los huevos (Ar *et al*, 1974; Ar y Rahn, 1985; Sahan *et al*, 2006).^{6,7,8} y a la duración del periodo en el tiempo de incubación (Rahn y Ar, 1974).³ De hecho, se ha establecido que una apropiada combinación entre el periodo total de incubación y la conductancia del cascarón son los principales factores que a lo largo del proceso de evolución, han permitido un apropiado desarrollo embrionario en huevos que muestran rangos de peso tan bajos como de menos de un gramo de peso (algunos colibríes), hasta más de un 1.4 kg (avestruces) (Ar y Rahn, 1985).⁷ Además, se ha observado que también existe variabilidad en el tamaño del huevo dentro de una misma especie, por ejemplo, en codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) existe un rango de 8 g hasta 14 g, en emúes (*Dromaius novaehollandiae*) el rango es de 400 a 700 g, en la gallina doméstica (*Gallus gallus*) los huevos fértiles pequeños van de 40 g hasta los más grandes de 75 g. Es evidente que una apropiada combinación entre conductancia del cascarón y el largo del periodo de incubación permite la enorme heterogeneidad en los tamaños de huevo entre las diferentes especies de aves; sin embargo, entre los diferentes tamaños de huevo dentro de una misma especie, la conductancia del cascarón es lo único que varía y aunque esto puede ocurrir en cantidades limitadas, la cuestión es que si ocurre cualquier desviación en el tamaño del huevo a partir del tamaño promedio óptimo para la edad del ave que los ovoposita, los huevos grandes tienen el riesgo de sufrir sobrehidratación y los pequeños deshidratación. Después de analizar los hallazgos hechos por Rahn y Ar (1974),³ Paganelli *et al* (1974)⁴ y Meir y Ar (1987), es factible determinar que en algunas especies aviares la limitación en el presupuesto o balance hídrico

dentro del huevo durante el periodo de incubación puede representar la fuerza evolucionaria que determina el máximo rango en el tamaño del huevo, el cual a su vez se encuentra condicionado por la constante en la conductancia del cascarón para cada especie, lo cual al final es una de las limitantes más importantes para la obtención de mayor cantidad de eclosiones y calidad de los pollitos nacidos.

Si bien, las diferencias genéticas entre las hembras, disponibilidad de alimento, variación estacional, tamaño de las hembras y la edad de la gallina son factores que posiblemente contribuyen a la variabilidad en el peso del huevo, algo muy importante también es el grado de homogeneidad y dispersión dentro de un mismo lote (grado de uniformidad) de aves (Suárez *et al*, 1997; Vázquez *et al*, 2006);^{9,10} En las estirpes de aves modernas que reciben suficiente cantidad de alimento y muestran un apropiado porcentaje de uniformidad, la variación estacional y la edad son las principales razones que explican los cambios en el tamaño del huevo, actualmente en México con la aplicación apropiada de calendarios de iluminación acordes a la fecha de nacimiento de las aves reproductoras, este factor muestra poco efecto de acción sobre ésta variable (tamaño del huevo), por lo cual al final el principal factor que explica su variación es la edad de la gallinas. Huevos grandes producen pollos grandes (Suárez *et al*, 1997; Vázquez *et al*, 2006),^{9,10} sin embargo, la forma de cómo ocurre esto aún no se encuentra bien esclarecido. Si el DE sigue una trayectoria fija determinada genéticamente no depende del tamaño del huevo, las diferencias en el peso de las aves a la eclosión debe reflejar los eventos fisiológicos que ocurren hacia el final de la incubación. De hecho, cerca del momento de la eclosión la asimilación del saco vitelino (SV) y la disponibilidad de O₂ pueden limitar más el crecimiento corporal en huevos pequeños que en los grandes, debido posiblemente a que la circulación en el SV y la conductancia de gases del

cascarón debe ser menor en los huevos pequeños. Adicionalmente los huevos grandes tienen proporcionalmente grandes SV y la incorporación abdominal de los residuos del vitelo próximo a la eclosión contribuyen a un mayor peso de los embriones de éstos huevos (Williams, 1994).¹¹ Otra, posibilidad aún no esclarecida es que la tasa de desarrollo embrionario muestra alguna correlación con el tamaño de cada huevo desde las fases tempranas de la incubación. En este caso, los huevos grandes deben de diferir de los pequeños en conductancia del cascarón y tiempo de incubación, por lo cual deben encontrarse las condiciones y requerimientos apropiados del embrión para lograr un balance hídrico apropiado, como en el caso de los diferentes tamaños de huevos de diferentes especies. Un factor que condiciona la pérdida de humedad en los huevos durante la incubación y regula el éxito en la eclosión de los embriones es la cutícula (Juárez *et al*, 2003).³ El cascarón está cubierto por una estructura llamada cutícula que forma una capa protectora alrededor del huevo, ésta tiene un espesor de 10 a 30 micras; se encuentra distribuida irregularmente y esta adherida a la parte calcificada del cascarón por la parte externa del mismo y está compuesta de materia orgánica de origen mucoproteico llamada mucina. (Quintana, 1993; North, 1986; Bell y Halls, 1971; Board y Halls, 1973).^{12,13,14,15} La síntesis de la cutícula se lleva a cabo en la fase final de la formación del huevo por las células basales del cuerpo del útero, el proceso se completa al pasar por las glándulas vaginales, las cuales contienen lípidos y esterios de la colessterina; se introduce en los poros del cascarón y forma tapones proteicos de tipo mucoso que sellan la entrada al interior del huevo, su función es impedir la entrada de partículas líquidas o sólidas y así evitar la invasión microbiana al interior del huevo; constituyendo la primer y más importante barrera de exclusión microbiana que posee el huevo ya fuera del ave reproductora (Sisson y Grossman, 1982; Stadelman y Coterill, 1986; Sparks y Board, 1894; Padron, 1989).^{16,17,18,19} La

cutícula está compuesta de 85% de proteína (3% proteínas hidrosolubles) y de 13 a 15% de lípidos y carbohidratos. La ausencia de cutícula sobre los huevos facilita la contaminación y altera el intercambio gaseoso, poniendo en riesgo la vida del embrión; lo cual debe considerarse con especial atención en la incubación de huevos de reproductoras pesadas mayores a las 45 semanas de edad, ya que se ha mencionado que en estas aves uno de los factores que deterioran la incubabilidad de sus huevos es precisamente la reducción en la calidad del cascarón y la calidad de la cutícula; aspecto que también se presenta frecuentemente en aves de segundo ciclo después de la pelecha, donde se ha descrito que el cascarón de los huevos ovopositados contiene la misma cantidad de calcio y fósforo; sin embargo, el peso y grosor del cascarón no aumentan ni se mantiene en la misma proporción que el tamaño del huevo y consecuentemente los huevos presentan un cascarón más delgado y con poros más amplios, los cuales permiten una mayor pérdida de peso durante la incubación y ponen en mayor riesgo su eclosión, al mismo tiempo que aumentan la probabilidad de una invasión microbiana en cada uno de los huevos que no cuentan con el sellado temporal apropiado que proporciona la cutícula natural (Juárez *et al*, 2003).² También, se ha sugerido que la morfología y la cantidad de la cutícula en huevos de reproductoras pesadas cambia durante el ciclo de producción, al final del mismo hay un aumento en la pérdida del vapor de agua a través del cascarón debido a una reducción en el grosor de la cutícula o a cambios en su composición química. Las fisuras o fracturas en la cutícula tal vez conecten en mayor proporción los canales de los poros con el exterior del huevo, lo cual contribuye a aumentar la pérdida de vapor de agua y a favorecer la contaminación (Cacho, 1991).²⁰ Antiguamente para evitar la pérdida de vapor de agua en el huevo para consumo humano se recomendaba el uso de aceite sobre el cascarón del huevo; sin embargo, ésta

práctica no es apropiada para el huevo destinado a la incubación ya que sella permanentemente los poros (Stadelman y Cotterill, 1986).¹⁷ Dentro del proceso respiratorio temprano del embrión, las estructuras extra embrionarias más importantes son la vasculosa (VS) y la membrana corioalantoidea (MCA), ambas favorecen la difusión de oxígeno (O₂), bióxido de carbono (CO₂) y vapor de H₂O entre el medio ambiente y la sangre del embrión (Tullett y Deeming, 1982).²¹ El intercambio de gases se facilita con base a la diferencia de gradientes de perfusión entre el interior del huevo y el ambiente, lo cual es fundamental para el desarrollo embrionario durante la incubación, ya que si este no es apropiado se puede afectar la viabilidad del embrión (Tullett y Deeming, 1982; Tona *et al*, 2007).^{21,22} Aunque el O₂ es el gas que impulsa la maquinaria metabólica de las células embrionarias con el fin de obtener un desarrollo complejo, la producción y presencia del CO₂ es imprescindible en la generación de la presión interna que favorece el intercambio gaseoso (Rahn y Ar, 1979; Tullett y Deeming, 1982).^{23,21} De manera artificial los huevos de gallina, son incubados en un ambiente con 21% de O₂ en presencia de 0.04 a 0.5% de CO₂ durante los diferentes períodos de la incubación. La ventilación de las incubadoras proporciona O₂ para el embrión y elimina el exceso de CO₂ generado. La presencia y cantidad específica de CO₂ a lo largo del proceso de incubación, ha mostrado ser muy importante en el desarrollo embrionario, se consideraba que niveles altos de CO₂ (superior a 4%) eran perjudiciales para el desarrollo del embrión (Sadler *et al*, 1954; Owen, 1991).^{24,25} Sin embargo, investigaciones recientes han mostrado que la hipercapnia puede ser benéfica para el DE (Gildersleeve y Boeschen, 1983; De Smit *et al*, 2006; Tona *et al*, 2007; Willemsen *et al*, 2008).^{26,27,22,28} De Smit *et al* (2006),²⁷ observaron que un aumento gradual del 1.0% hasta el 1.5% de CO₂ durante los primeros 10 días de incubación favorece un mayor crecimiento del embrión, más número de pollitos eclosionados

y un mejor desenvolvimiento del crecimiento después de la eclosión. López (2011)²⁹ indica que bajo un sistema de alta concentración de CO₂ durante la primer mitad del periodo de incubación hay menor porcentaje de embriones en mala posición y mayor porcentaje de nacimientos de huevos fértiles de aves reproductoras ligeras y pesadas. Un incremento de CO₂ de 0.9 hasta 1.2%, mostró un efecto positivo en el DE y un diferencial de peso del embrión con relación al grupo testigo (Bruggeman *et al*, 2007, López, 2011).^{30,29} Es decir, la tolerancia de los embriones al CO₂ se modifica conforme avanza el DE, si en los primeros 4 días la concentración de CO₂ incrementa súbitamente hasta 1% puede ser letal para el embrión (Taylor *et al*, 1956).³¹ Lo cual indica la sensibilidad de los embriones a altas concentraciones de CO₂ durante este periodo, esto posiblemente esté relacionado con la falta de capacidad buffer de los embriones tempranos para poder manejar apropiadamente altos niveles de CO₂ durante este periodo temprano de la incubación (Bruggeman *et al*, 2007).³⁰ Durante los días 5 y 8 DE, los embriones pueden sobrevivir a concentraciones de 3% de CO₂, entre los días 9 y 12 de incubación los embriones pueden sobrevivir hasta concentraciones de 5% de CO₂ (Sadler *et al*, 1954; Taylor y Kreutziger, 1965).^{24,32} Dicha tolerancia puede deberse, al rápido establecimiento del sistema respiratorio a través de la MCA, que a las 96 horas de DE se encuentra ya formada y a las 192 horas de DE hace contacto directo con el cascarón (De Smit *et al*, 2006; Bruggeman *et al*, 2007).^{27,30} El incremento de CO₂ tiende a lograr efectos similares a la hipoxia, promueve el desarrollo y funcionamiento de determinados órganos del embrión, favorece una eclosión temprana y optimiza la incubabilidad (De Smit *et al*, 2006, Tona *et al*. 2007, Bahadoran *et al*, 2010).^{27,22,33}

En el presente estudio, se estudia el efecto que muestra un protocolo de incubación que contempla el incremento paulatino de altas concentraciones de CO₂ de forma natural dentro

del gabinete de incubación durante los primeros 10 días de incubación de huevos fértiles de reproductoras pesadas mayores a 45 semanas de vida, con la finalidad de establecer el crecimiento embrionario y verificar en huevos de aves reproductoras pesadas que previamente al momento del arranque de la incubación recibieron una cutícula artificial si se modifica la conductancia del cascarón y esto muestra un efecto positivo sobre el balance finito del agua del huevo durante la incubación con altas concentraciones de CO₂ utilizado durante la incubación temprana favoreciendo la eclosión y calidad de los pollitos nacidos.

HIPÓTESIS

Al aumentar la concentración de CO₂ de forma natural por arriba del 0.5%, en el interior de la incubadora durante la primer mitad de la incubación de huevos de aves reproductoras pesadas que al inicio de la incubación recibieron una cutícula artificial para sellar temporalmente los poros del cascarón, se favorece un desarrollo óptimo del embrión con mejora en los parámetros de incubación y la calidad de los pollitos eclosionados.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del incremento gradual de CO₂ durante la primer etapa de la incubación, por medio de restringir la ventilación de la máquina incubadora, sobre la mejora de los parámetros de incubación y la calidad de las aves eclosionadas provenientes de huevos de reproductoras pesadas; los cuales, previo al arranque del proceso de incubación recibieron un sellado temporal de los poros del cascarón por medio de la aplicación por aspersión de una cutícula artificial.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la concentración de CO₂ y de O₂, durante la incubación con dos niveles de restricción de la ventilación externa del gabinete de incubación, durante la primera etapa del desarrollo embrionario.
- Verificar la incubabilidad y natalidad de los embriones, provenientes de dos diferentes patrones de ventilación restringida durante la primer mitad del proceso incubatorio.
- Determinar el efecto de la aplicación de dos concentraciones de una cutícula artificial, sobre el cascarón de huevos fértiles al inicio de la incubación, con ventilación restringida sobre el desarrollo embrionario a diferentes tiempos del proceso incubatorio.
- Evaluar el efecto de la aplicación, de dos concentraciones de una cutícula artificial sobre el cascarón de huevos aptos para incubación sobre parámetros de incubabilidad.
- Determinar la calidad de los pollitos eclosionados, a partir de dos diferentes patrones de ventilación (ventilación restringida con alta y media concentración de CO₂ y uso de dos diferentes porcentajes de aplicación de una cutícula artificial).
- Efectuar el embriodiagnóstico en los huevos no eclosionados, de los tratamientos evaluados con la finalidad de buscar una relación entre las concentraciones de gases obtenidas, el uso de las cutículas empleadas y la mortalidad embrionaria observada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Huevos fértiles

Los huevos para la incubación, se obtuvieron de aves reproductoras pesadas de la estirpe Ross 308 de 48 semanas de edad alojadas en una granja comercial ubicada en Jojutla, Morelos; el transporte se efectuó con un vehículo acondicionado para mantener las condiciones específicas de temperatura, humedad relativa y restricción al movimiento requerido para el transporte de huevo fértil. Todos los huevos fueron seleccionados, identificados y se pesaron inmediatamente después de su arribo al sitio de incubación, posteriormente fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los tratamientos.

Diseño experimental

Se realizó un experimento, en el cual se formaron dos grupos experimentales asignados cada uno de ellos a cada una de dos máquinas de incubación (SPORTSMAN® Mod. #1502 año 2010, n= 288 huevos), el primer grupo asignado a una sola máquina fue de ventilación restringida con la finalidad de obtener una concentración media de CO₂ (~6,000 ppm) al día 10 DE; el segundo grupo se asignó a la segunda máquina, este recibió ventilación limitada más estricta (*air tight*) diseñada para lograr una concentración alta de CO₂ (~17,000 ppm). En éste experimento se utilizaron huevos fértiles de aves reproductoras pesadas de 48 semanas de edad, el primer y segundo grupo del presente estudio de no ventilación (NV) o ventilación restringida se acondicionó por medio de sellar con cinta de Polietileno (P) los *Damper* y exhaucio de cada una de las dos máquinas, este tipo de ventilación se obtiene por medio de un sellado parcial del *Damper* (apertura de introducción de aire fresco a la máquina en la parte superior de este modelo de incubadora, el flujo de aire se dirige primero a una cámara de

precalentamiento y después al ventilador que lo introduce al cuerpo de la cámara de incubación en forma de presión positiva descendente) y de un sellado completo de la salida de aire (exhaucio, consistente en tres aperturas ubicadas en la parte inferior de este modelo), el sello se mantuvo durante un lapso de 10 días de incubación a partir del arranque del proceso (240 horas), lo cual permitió un incremento natural de la concentración de CO₂ en el interior del gabinete de incubación; el segundo grupo fue también de ventilación limitada, sin embargo, éste grupo se mantuvo bajo condiciones más estrictas de sellado del Damper, lo cual permitió un mayor incremento de CO₂ al limitar el acceso de aire fresco a la máquina durante los primeros 10 días de incubación, cada tratamiento constó a su vez de tres grupos experimentales: Con cutícula (2.5%, 5%) y sin cutícula, cada uno de ellos contó con una repetición en cada una de las dos máquinas, cada repetición contaba con n=48 huevos como unidad de observación.

Cutícula artificial

La cutícula artificial se elaboró a partir de un liofilizado de albúmina completa de huevo de gallina, el cual se hidrató antes de su utilización al 2.5 y 5.0% con solución tamponada amortiguadora (PBS), a la cutícula se le agregó una solución desinfectante con base a una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro (Soluvet® estheripharma, S.A. de C. V.), un potencializador del desinfectante, un estabilizante, un surfactante y un acidificante. Se esperó una degradación progresiva de estos componentes bajo las condiciones de temperatura y humedad relativas empleadas en el presente estudio, durante al menos la primer mitad del proceso de incubación.

Aplicación de la cutícula artificial

Se aplicó por medio de un atomizador manual, de gota mediana a una distancia respecto a los alveolos del huevo fértil de 15 cm aproximadamente.

Protocolo de las condiciones de incubación

En la incubación de embriones de alta conformación (Ross 308), se requieren condiciones especiales, las temperaturas de bulbo seco y húmedo para ambos grupos experimentales se seleccionaron a partir de una adaptación de diversos trabajos de investigación previos efectuados a gran altitud (2,243 m.s.n.m.); la temperatura del bulbo seco del día 1 al 2 del DE fue de 100.0°F, del día 3 al 7 de 99.9°F, del día 8 al de 10 de 99.7°F, del día 11 al 13 fue de 99.5°F, del día 14 al 15 de 99.3°F, del día 16 al 17 de 99.0°F, y del día 18 al 21 de 98.4°F; la temperatura promedio del bulbo húmedo en ambos grupos experimentales del día 1 al 18 del DE se mantuvo en 84.5°F.

Los huevos a incubar en todos los tratamientos, recibieron un movimiento lateral a su eje vertical de 45° cada hora. De las 444 horas hasta la eclosión no tuvieron movimiento y se les proporcionó una temperatura del bulbo húmedo de 90°F (Meir y Tazawa 1999; Tona *et al*, 2004; Lourens *et al*, 2005; Sahan *et al*, 2006)^{35, 36, 37, 8}

La temperatura y humedad relativa del ambiente y de las máquinas incubadoras se verificó diariamente; la temperatura en grados centígrados (°C) se midió con un termómetro de columna mercurial (Brannan®), verificado previamente con un patrón certificado por la entidad mexicana de acreditación (E.M.A.), la humedad relativa (%) se determinó con un higrómetro de cabello artificial de tensión variable (Taylor®).

La medición de oxígeno (%) se realizó con una celda galvánica (Analox®), el CO₂ (ppm) se determinó por medio de un sensor infrarrojo (Analox®); las lecturas de estos dos gases se efectuaron directamente del ambiente y de cada una de las dos máquinas del tratamiento que consideró un sellado parcial (concentración media de CO₂) y casi completo del gabinete de incubación (concentración alta de CO₂). Todas las variables se verificaron y registraron cuatro veces al día.

Parámetros de incubación

En ambas máquinas, la pérdida de humedad se determinó a partir de la diferencia entre el peso perdido en gramos al día 10, 12, 14, 16 y 18 del DE, con relación al peso del mismo huevo al momento de iniciar la incubación, la pérdida de peso se expreso en porcentaje. Adicional a la determinación de la fertilidad por medio de la metodología de embriodiagnóstico, se evaluó el porcentaje de incubabilidad en cada uno de los lotes de huevos asignados aleatoriamente a cada uno de los tratamientos, para el cálculo de incubabilidad se utilizo la siguiente fórmula:

$(\text{Total de pollitos nacidos} \div \text{total de huevos fértiles}) \times 100 = \text{Porcentaje de pollitos nacidos a partir solo de huevos fértiles (\% incubabilidad)}$.

El porcentaje de natalidad fue calculado con la siguiente fórmula:

$(\text{Total de pollitos nacidos} \div \text{total de huevos incubados}) \times 100 = \text{Porcentaje de pollitos nacidos del total de huevos incubados (\% natalidad)}$.

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 primer hasta el último pollito eclosionado, para ello se consideró el máximo retiro de pollitos hasta un margen de dispersión de una a dos desviaciones estándar (67%-95% del total de observaciones respectivamente) posterior y alrededor del promedio máximo de eclosiones obtenido en cada máquina incubadora.

Calificación de la calidad de los pollitos recién nacidos

Se evaluaron diez parámetros de calidad de los pollitos eclosionados, los cuales están relacionados directamente con procesos productivos de importancia descritos ya previamente (Onagbesan et al, 2004; Boerjan 2005; Wolansky y Renema, 2006; López *et al*, 2009).^{38, 39, 40,}

⁴¹ La metodología de evaluación se basó en una escala de 100 puntos máximos obtenibles por pollito, donde cada uno de los parámetros de calidad se determinó de acuerdo con la importancia de la característica evaluada, con relación a la calidad del pollito a la eclosión y al efecto de esta sobre la etapa productiva posterior de las aves (Lopez *et al*, 2009).⁴¹ Se obtuvo un promedio de calificación en puntos por cada tratamiento de ventilación y uso o no de cutícula artificial. De acuerdo con la calificación promedio obtenida en los pollitos eclosionados de cada máquina incubadora, se categorizó de acuerdo a la siguiente escala de calificación: 90-100 puntos = Excelente; 80 a 89 = Buena; 70 a 79= Regular; 60 a 69= Deficiente y menor a 60 = inaceptable; los resultados se expresaron como porcentaje parcial del total de pollitos evaluados por tratamiento.

Medición de los pollitos nacidos

Al día uno de eclosión y después de evaluar la calidad de cada pollito, se obtuvo el peso (g) del pollito, del saco vitelino y de la canal sin órganos ni yema residual (Onagbesan *et al*, 2004; Wolansky y Renema, 2006; Willemsen *et al*, 2008; Mauldin *et al*, 2008; Petek *et al*, 2008).^{38, 40, 28, 42, 43} Al día 10, 12 14, 16 y 18, la canal y el saco vitelino de cada embrión se pesaron por separado, el peso se efectuó con base húmeda y la misma muestra con base seca.

Evaluación de la mortalidad embrionaria

En ambas máquinas, una vez realizado el ovoscopiado para eliminar los huevos claros durante la transferencia de los embriones vivos al día 18 de incubación, y después de las 530 horas de incubación, se registro la mortalidad embrionaria por grupo experimental de incubación, ésta se clasifico por etapas, las cuales fueron: I (día 1 al 7), II (día 8 al 17), III (día 18 al 21) y IV (Picados no nacidos), proporción de embriones en mala posición, embriones con deformidades congénitas y embriones contaminados; en todos los tratamientos se efectuaron registros de mortalidad (Juárez *et al*, 2010).⁴⁴

Análisis estadístico

Las variables explicativas primarias son la condición de ventilación restringida media y ventilación restringida alta durante los primeros 10 días de incubación y la deposición de cutícula artificial sobre el cascarón; mientras que las variables de respuesta fueron los parámetros de incubación y la calidad del pollito. Estas variables se sujetaron a una prueba de normalidad, las variables con comportamiento paramétrico se analizaron a través de la descomposición cuadrática de la varianza (ANDEVA) con un modelo de un solo factor (GLM),

cuando se determinó algún tipo de diferencia significativa entre alguno de los tratamientos, la diferencia entre medias de grupo se determinó por medio de la técnica de comparación múltiple de medias de Sheffe con una significancia con relación a la unidad de α igual o menor al 5% (Gill, 1978).⁴⁵

Los datos relativos y proporcionales en cada grupo de incubación, previo a su análisis estadístico, se transformaron a través del arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Para determinar las probables diferencias entre los datos, éstos se sometieron a un análisis de varianza de un solo factor (GLM); las diferencias significativas entre tratamientos se discriminaron por medio de la prueba de comparación múltiple de medias de Sheffe ($P < 0.05$) (Gill, 1978).⁴⁵

Los datos porcentuales de la mortalidad embrionaria registrada durante el embriodiagnóstico por etapas, se evaluó por medio de la prueba χ^2 , para ello se fijó una significancia de $P < 0.05$ (Gill, 1978).⁴⁵

RESULTADOS

El promedio de fertilidad aparente fue de 94.3%, no hubo diferencia entre grupos. La incubabilidad en el grupo de alta concentración de CO₂ sin cutícula fue la más alta (86.4%), solo difirió ($P < 0.05$) con los dos grupos de la misma máquina pero que recibieron la cutícula, (Cuadro 1), aunque el grupo de media concentración sin cutícula mostró un porcentaje de incubabilidad de 81.8%, solo fue diferente ($P < 0.05$) con respecto al grupo de alta [CO₂] y cutícula de 5%, el cual con 65.2% de aves nacidas de fértiles fue el de menor número de aves eclosionadas (Cuadro 1).

La natalidad mostró un patrón de comportamiento similar a la incubabilidad, aunque la diferencia entre el grupo de media [CO₂] y el de alta [CO₂] con el tratamiento de 5% de cutícula no pudo constatarse nuevamente (Cuadro 1).

El grupo de ventilación limitada con alta concentración y cutícula al 5% mostró 17.8% de mortalidad embrionaria temprana, mayor ($P < 0.05$) al 10% del grupo de alta [CO₂] con 2.5% de cutícula y al grupo testigo, a su vez este porcentaje fue mayor ($P < 0.05$) al 7.77% observado en el grupo testigo de media concentración, el que fue mayor ($P < 0.05$) a los dos grupos de media [CO₂] con cutícula donde el grupo con 2.5% mostró un 4.44% de mortalidad y el de 5% un 3.33% (Cuadro 1).

La mortalidad embrionaria de la etapa II en el grupo de alta [CO₂] con 5% de cutícula fue de 11.65% y el de 2.5% de cutícula de 18.91% ambos fueron mayores ($P < 0.05$) al 2.2% observado en el grupo testigo de la misma máquina, el cual a su vez no difirió con el grupo testigo de media concentración de CO₂; sin embargo, ambos mostraron menor mortalidad ($P < 0.05$) que los dos grupos de media [CO₂] que recibieron el tratamiento con cutícula, los cuales no difirieron entre sí ni con los dos grupos con cutícula de alta concentración, el grupo

con 5% de cutícula mostró una mortalidad media de 7.23% y el de 2.5% tuvo 5.61% (Cuadro 1). La mortalidad embrionaria más alta en la etapa III se registró en el grupo de ventilación limitada con media concentración de CO₂ y 2.5% de cutícula, donde el 8.41% de los embriones muertos en este grupo fue mayor (P<0.05) al porcentaje observado en el resto de los grupos; el menor porcentaje de mortalidad (0.62%) se registró en el grupo testigo incubado con alta [CO₂], porcentaje diferente con relación al resto de los grupos (Cuadro 1).

La mortalidad embrionaria más alta en la etapa IV, se registró en el grupo de ventilación limitada con media concentración de CO₂ y 2.5% de cutícula, con 6.02% fue mayor (P<0.05) al resto de los grupos; el grupo con media [CO₂] y 5% de cutícula aunque mostró un menor valor (4.83%) diferente (P<0.05) al resto de los grupos evaluados, fue mucho mayor (P<0.05) al grupo testigo incubado con alta [CO₂] en el cual se observó el menor (P<0.05) porcentaje de mortalidad (0.5%) de toda la prueba; los grupos testigo de media concentración y los grupos de alta concentración con cutícula mostraron valores intermedios de mortalidad (0.72-1.24%), sin embargo, no fueron diferentes entre sí (Cuadro 1).

El promedio de peso del huevo de todos los grupos al inicio del trabajo experimental fue de 67.46g, no hubo diferencia estadística entre ellos. El porcentaje de pérdida de peso en los grupos con media [CO₂] al día 10 DE, no fue diferente entre sí (\bar{x} =4.9%), sin embargo, estos si difirieron (P<0.05) con respecto a la pérdida de peso de los grupos con alta [CO₂] y cutícula, donde estos mostraron menor pérdida de peso (\bar{x} =3.5%), de estos grupos el de 5% de cutícula (3.4%) fue diferente (P<0.05) al grupo testigo de alta [CO₂] (4%), mientras que este no difirió con el de 2.5% de cutícula (Cuadro 2).

El grupo de media [CO₂] sin cutícula presentó el mayor porcentaje de pérdida de peso al día 12 DE (8.19%), sin embargo, este solo fue diferente (P<0.05) con relación a los dos grupos de alta concentración de CO₂ que recibieron la cutícula (\bar{x} =5.45%) (Cuadro 2).

Todos los grupos con media [CO₂] mostraron un comportamiento similar en el porcentaje de pérdida de peso al día 14 DE, diferentes (P<0.05), a los dos grupos con alta [CO₂] y cutícula (2.5=7.14%; 5=6.65%) ambos a su vez no fueron diferentes con el grupo testigo de alta [CO₂] (7.83%), el cual no fue diferente a los dos grupos de media [CO₂] que recibieron la cutícula y que fueron semejantes entre sí (2.5=8.75%; 5=8.68%). En el porcentaje de pérdida de peso al día 16 DE no hubo diferencia (P<0.05) entre los seis grupos (Cuadro 2).

El mayor porcentaje de pérdida de peso al día 18 DE fue de 14% en el grupo de media [CO₂] que no recibió la cutícula, fue diferente (P<0.05) a los dos grupos de alta [CO₂], que recibieron la cutícula y mostraron la menor pérdida de humedad en esta fecha (2.5=10%; 5=10.1%) (Cuadro 2). El grupo de alta [CO₂] que no recibió la cutícula (12.85%) aunque mostró diferencia (P<0.05) con los grupos de alta [CO₂] que si la recibieron, no fue diferente con ninguno de los grupos de media [CO₂] con cutícula o el testigo, estos dos grupos de media [CO₂] y cutícula (2.5=11.2%; 5=11.1%) no difirieron con respecto a los otros dos grupos de alta [CO₂] que también recibieron la cutícula. La temperatura de las máquinas no mostró diferencia entre los dos tipos de [CO₂] (Cuadro 2).

Todos los grupos que recibieron cutícula mostraron un atraso en el inicio del picaje externo, aunque este tardo más en los de media [CO₂] (2.5=524 hrs; 5= 531 hrs), ambas [CO₂] fueron diferentes (P<0.05) a los grupos testigos de alta [CO₂] (492 hrs) y media [CO₂] (496 hrs) que

no recibieron la cutícula. No hubo diferencia entre grupos en el término de nacimientos (Cuadro 3).

El grupo de alta [CO₂] sin cutícula fue el que presentó la mayor ventana de nacimientos (36 hrs.) diferente (P<0.05) a las 32, 17 y 14 hrs de los grupos de media [CO₂] sin cutícula, alta [CO₂] y media [CO₂] con 2.5% de cutícula respectivamente (Cuadro 3), estos últimos fueron mayores (P<0.05) a los grupos con cutícula al 5%, alta [CO₂] (8 hrs) y media [CO₂] (5 hrs) (Cuadro 3).

Los dos grupos que no recibieron cutícula presentaron un mayor porcentaje de pollitos de excelente calidad, diferentes (P<0.05) al resto de los grupos, el grupo de 5% de cutícula y alta [CO₂] no mostró ningún pollito en esta categoría. No hubo diferencia (P<0.05) en los parámetros de bueno, regular y deficiente entre los grupos (Cuadro 4).

El grupo de alta [CO₂] con de 5% de cutícula presentó el mayor porcentaje de pollitos inaceptables (25%), aunque difirió únicamente (P<0.05) con el 0% de los grupos de alta [CO₂] sin cutícula y media [CO₂] con cutícula al 2.5% (Cuadro 4).

La concentración de O₂ en las dos máquinas incubadoras no presentó diferencia (P<0.05) durante toda la incubación (Cuadro 5). La máquina con alta [CO₂] desde el día 1 DE hasta el día 9 DE presentó mayor (P<0.05) cantidad de CO₂ con relación a la de media [CO₂], aunque el día 10 de incubación presentó un comportamiento similar en la producción de CO₂, los días 11 y 12 DE la máquina de alta [CO₂] volvió a tener mayor producción de CO₂ (P<0.05) que la incubadora con media de [CO₂], el día 13, 14 y 15 DE no hubo diferencia entre ellas, sin embargo, desde el día 16 al 18 la máquina de media [CO₂] fue mayor (P<0.05) que la de alta [CO₂], el ultimo día de evaluación no hubo diferencia entre máquinas (Cuadro 5).

El promedio de la concentración de gases ambientales en la sala durante la incubación fue de 20.69% de O₂ y de 1,221.5 ppm de CO₂, la temperatura promedio fue de 22.9 °C y la HR de 59.8% (Cuadro 6).

El peso promedio del embrión en base húmeda del grupo de alta [CO₂] sin cutícula al día 10 DE fue de 2.92 g, mayor al resto de los grupos; diferente (P<0.05) únicamente con los dos grupos de media [CO₂] con cutícula al 2.5% y 5% (2.18 y el 2.17 g respectivamente). Los pesos de los embriones en base seca al día 10 DE mostraron un comportamiento estadístico similar a los pesos registrados con base húmeda (Cuadro 7).

El mayor peso de SV en base húmeda fue en el grupo testigo de media [CO₂] con un peso de 25.18 g, no fue diferente con el resto de los grupos, a excepción del grupo de media [CO₂] y 2.5 de cutícula (20.07g) el cual fue mucho menor (P<0.05). Los grupos de alta [CO₂] fueron numéricamente menores; sin embargo, no mostraron diferencia con relación a los de media [CO₂]. El saco vitelino en base seca mostró un comportamiento similar a los pesos de base húmeda, aunque en general se observó que hay un menor peso en los grupos de alta [CO₂] con relación a los de media [CO₂]. Aunque el porcentaje de peso relativo de los embriones del grupo de alta [CO₂] sin cutícula al día 10 DE en base húmeda y seca fueron los de mayor peso relativo con relación al peso del huevo al inicio de la incubación, se verificó únicamente un tipo de diferencia estadística entre los grupos a esta edad de forma análoga al peso de los embriones en gramos en base húmeda (Cuadro 7).

El peso relativo del SV en base húmeda al día 10 DE en el grupo de media concentración de CO₂ con 5% de cutícula, presentó el mayor porcentaje (34.35%) con respecto al peso del huevo al día 1 de incubación, fue diferente (P<0.05) al 29.79% del grupo de alta [CO₂] y 2.5% de cutícula y al grupo de media concentración de CO₂ con cutícula al 2.5% (28%), no hubo

diferencia significativa con el resto de los grupos, el comportamiento en general fue similar al peso en gramos del SV en base húmeda y seca, el peso relativo del SV en base seca fue similar estadísticamente al comportamiento de este mismo espécimen pero medido en base húmeda (Cuadro 7).

Los grupos testigos sin cutícula de alta y media [CO₂], mostraron los mayores pesos de los embriones en base húmeda al día 12 del DE, 6.39 g y 5.98 g respectivamente, sin diferir entre sí; los pesos de los embriones en base húmeda del grupo de media [CO₂] con cutícula fueron los de menor peso, aunque éstos fueron similares a los pesos de los embriones en base húmeda del grupo de alta [CO₂] con cutícula. A excepción del grupo de alta concentración de CO₂ con cutícula al 2.5 %, el cual no difirió estadísticamente (P<0.05) con el resto de los grupos con cutícula y el grupo testigo sin cutícula pero de media [CO₂] (Cuadro 8). El peso de los embriones en base seca al día 12 del DE, mostraron un comportamiento estadístico similar al de los pesos de los embriones en base húmeda. El peso promedio del SV en base húmeda al día 12 del DE en el grupo testigo de alta [CO₂] (8.77 g) no difirió con el resto de los grupos, a excepción del grupo de media [CO₂] y 2.5% de C (8.09 g) (P<0.05) el resto de los grupos no difirieron entre sí (Cuadro 8). El peso promedio del SV en base seca al día 12 del DE mostró un comportamiento estadístico similar al registrado a los mismos especímenes en base húmeda (Cuadro 8).

El peso porcentual relativo de los embriones en base húmeda al día 12 del DE en los grupos testigos sin cutícula, con alta y media [CO₂] fueron los más altos y diferentes (P<0.05) principalmente a los dos grupos experimentales de alta y media [CO₂] con 5% de cutícula (Cuadro 8). El peso relativo del SV en base húmeda en los dos grupos testigo de alta [CO₂] (32.5 %), media [CO₂] (33.2 %) y media [CO₂] con 2.5% de cutícula (31.9 %) fueron menores

($P < 0.05$) a los dos grupos de alta $[CO_2]$ con cutícula 2.5% (37.5 %), 5% (36.2 %) y media $[CO_2]$ con 5% de cutícula (37.2 %) quienes a su vez no difirieron entre sí (Cuadro 8). El peso relativo del SV en base seca, mostró un comportamiento estadístico similar al peso relativo del SV en base húmeda (Cuadro 8).

Los grupos testigo sin cutícula de alta y de media $[CO_2]$ de CO_2 , obtuvieron los mayores promedios de peso de los embriones en base húmeda al día 14 DE, 13.35 y 11.77g respectivamente, este último sin diferencia con respecto a los grupos de alta $[CO_2]$ con cutícula 2.5 % y 5%, los cuales no difirieron con ambos grupos con cutícula y media $[CO_2]$. El peso de los embriones en base seca al día 14 de DE, presentaron el mismo comportamiento estadístico que el observado en base húmeda (Cuadro 9).

Los sacos vitelinos de los grupos con cutícula de 5% y 2,5% a media $[CO_2]$ fueron los más pesados (18.99 y 18.66 g) diferentes solo con relación al testigo de alta $[CO_2]$ (16.52 g) y de media $[CO_2]$ (16.59 g), los pesos de los SV en base seca mostraron un comportamiento análogo a los pesos obtenidos en base húmeda; los pesos proporcionales de los embriones en base húmeda y seca fueron análogos estadísticamente a los pesos obtenidos en gramos , únicamente el peso proporcional de alta $[CO_2]$ con 2.5% de C fue mayor (Cuadro 9).

El mayor peso del embrión en base húmeda al día 16 DE fue de 21.2 g en el grupo de alta $[CO_2]$ sin cutícula, similar al grupo de alta $[CO_2]$ con cutícula de 2.5% y al testigo de media $[CO_2]$ sin cutícula, aunque estos dos últimos grupos fueron similares al resto; los pesos del embrión en base seca al día 16 DE fue análogo al peso en base húmeda, donde la única diferencia fue que el grupo de 2.5% de C y media $[CO_2]$ no difirió con el de mayor peso (grupo testigo de alta $[CO_2]$) (Cuadro 10). El mayor peso de SV en base húmeda fue en el grupo testigo de media $[CO_2]$ (18.2 g) diferente ($P < 0.05$) solo con el grupo de alta $[CO_2]$ y 5% de

cutícula con el menor peso (10 g) de SV, estos dos grupos no difirieron con el resto de los grupos. Al obtener el peso seco de los SV al día 16 DE, se observó que el testigo de media [CO₂] con 7,7 g fue el mayor y diferente (P<0.05) a los grupos con cutícula de media [CO₂] (5%, 6.3g y 2.5%,6.9 g), diferentes (P<0.05) a su vez con el de menor peso (4.36 g) del grupo de alta [CO₂] y cutícula de 5%. La proporcionalidad de los embriones en base húmeda fue mayor en el grupo testigo de alta [CO₂] (30.5%) diferente (P<0.05) con el de alta [CO₂] y 5% de C (21.4%) y los de media [CO₂] con cutícula (2.5, 21%; 5, 23%); la proporcionalidad en base seca del embrión de los grupos fue similar al registrado en base húmeda, la única diferencia se observó en el grupo de 2.5% de C (4.1%) igual a la del grupo testigo de alta [CO₂] (4.5%) (Cuadro 10). Proporcionalmente el SV en base húmeda fue mayor en el grupo testigo de alta [CO₂] (22.3%) y de media [CO₂] (21.8%) diferente (P<0.05) a los grupos con cutícula de 2.5% de media [CO₂] (19.4%) y alta [CO₂] (19.2%), que fueron diferentes (P<0.05) al SV de menor proporción (14.9%) del grupo de 5% de C y alta [CO₂]. La proporcionalidad del SV en base seca fue similar estadísticamente a la proporcionalidad observada en SV base húmeda (Cuadro 10).

El mayor peso promedio del embrión en base húmeda al día 18 DE fue el del grupo de media [CO₂] sin cutícula (26.94 g.) y de alta [CO₂] (26.02 g), diferentes (P<0.05) únicamente con los grupos de alta [CO₂] con cutícula 5% (18.5g) y 2.5% (18.4g), que a su vez no difirieron con el resto de los grupos de media [CO₂] (2.5%, 21.3g; 5%, 22.5g) (Cuadro 11). Los pesos del embrión en base seca fueron similares a los de base húmeda, con la excepción única del grupo de media [CO₂] y 5% de cutícula (3.72 g), el cual fue idéntico a los grupos testigo de media [CO₂] (4.68 g) y de alta [CO₂] (4.3g), y aunque éste grupo no fue diferente al de 2.5% C de media [CO₂], si difirió (P<0.05) con relación a los de alta [CO₂] con cutícula (5%, 2.9g;

2.5% 2.8g). El mayor peso de SV en base húmeda fue en el grupo de 2.5% de cutícula con alta [CO₂] (22.82g); diferente (P<0.05) a los grupos testigo de media [CO₂] (18.2g) y alta [CO₂] (18.8g) los cuales mostraron los menores pesos y no fueron diferentes con el resto de los grupos, los pesos de los SV en base seca mostraron un comportamiento estadístico similar a los pesos de los SV en base húmeda (Cuadro 11).

El grupo de alta [CO₂] sin cutícula fue el de mayor porcentaje proporcional al día 18 del DE en base húmeda (38.9%) diferente (P<0.05) a los grupos con cutícula (2.5%, 20.9%; 5%, 22.8%) y media [CO₂] y 5% de C (26.9%); no difiriendo con el grupo de 2.5% C de media [CO₂] (27%) y el testigo (32.3%) de media [CO₂]; la proporcionalidad de los embriones en base seca fueron análogos estadísticamente a los porcentajes mostrados por los embriones en base húmeda (Cuadro 11). El grupo de media [CO₂] con cutícula de 5% presentó la mayor proporcionalidad en SV de base húmeda (32.8%), mayor (P<0.05) con relación al grupo de 5% de C y alta [CO₂] (27%), ambos grupos no difirieron con el resto. La proporción del SV al día 18 DE fue menor en el grupo de alta [CO₂] y 5% de cutícula (11.4%) sin diferir con el testigo (12.4%), la mayor proporción (P<0.05) se observó en el grupo de media [CO₂] y 5% de cutícula (13.7%) que no difirió con el resto de los grupos (Cuadro 11). No se observaron diferencias en ninguno de los parámetros evaluados al día 1 de eclosión, entre los pollitos de los diferentes grupos (Cuadro 12).

DISCUSIÓN

Uno de los factores más importantes que condiciona el éxito durante el proceso de la incubación, es la eficiencia fisiológica que muestra cada embrión durante su desarrollo sobre el establecimiento y culminación de su proceso de respiración, independiente al apropiado desarrollo de los sistemas anatómicos primarios de respiración (vasculosa del vitelo y MCA), la conductancia del cascarón es la principal limitante en esta cualidad. El uso de una cutícula artificial de acuerdo a Juárez *et al* (2003)² y Enguilo (1994),⁴⁶ ha mostrado un efecto positivo sobre la incubabilidad, aunque ésta tuvo un efecto negativo sobre el peso de los pollitos eclosionados. En el presente estudio, el uso de una cutícula artificial modifica a la k (k =Constante en la conductancia de gases del cascarón) de los cascarones de huevos que recibieron este tratamiento, la finalidad de modificar tempranamente la k del cascarón era cambiar la trayectoria de la incubación, lo cual junto con el aumento de presión parcial ambiental de CO_2 durante la primera parte de la incubación debería contribuir a modular y lograr balancear óptimamente el intercambio de gases durante el resto del proceso de incubación y factiblemente favorecer un desarrollo óptimo del embrión; sin embargo, ésta modificación de k en los huevos incubados con alta concentración de CO_2 fue negativa para el desarrollo embrionario del embrión, ya que los grupos que recibieron la cutícula mostraron resultados de incubabilidad significativamente menores a los grupos testigo sin cutícula incubados con alta y baja concentración de CO_2 . El efecto de la cutícula sobre la incubabilidad, mostró mayor efecto negativo en los grupos con alta concentración de CO_2 , en los cuales se observó hasta 21 por ciento menos de incubabilidad que en el grupo testigo sin cutícula; este efecto en los grupos con cutícula y concentración media de CO_2 aunque fue menor, presentó 10% menos incubabilidad con relación al grupo testigo sin cutícula con el

mismo perfil de CO₂ durante la incubación temprana de los embriones. Es posible que esta diferencia en los parámetros de incubación se debe a un efecto directo sobre una falta de aporte suficiente de O₂ para el embrión, el cual aparentemente decreció y esta situación se agudizó en los grupos con cutícula y mayor concentración de CO₂, es posible que los huevos de este grupo al tener una mayor presión de CO₂ en el ambiente adyacente al cascarón y debido al efecto más agudo de no-ventilación aunado a una menor permeabilidad del cascarón a la difusión de los gases esto debido al efecto de la cutícula, la disponibilidad de O₂ disminuyó progresivamente en la etapa más crítica de utilización de O₂ por parte del embrión durante la fase embrionaria de formación primaria de las capas germinales, la cual ocurre alrededor de las 150 horas de DE, etapa donde la utilización de O₂ y por lo tanto la eliminación de CO₂ se incrementan paulatinamente de forma correlativa. De acuerdo a Fasenko *et al* (2003),⁴⁷ del día 6 al 10 DE la producción de CO₂ se incrementa exponencialmente, por lo cual el O₂ disponible empieza agotarse rápidamente, en el presente experimento la producción de CO₂ del grupo testigo sin cutícula contribuyó a aumentar natural y directamente la concentración de CO₂ dentro de la máquina hasta alcanzar una concentración de 15,000 ppm al día 10 DE, lo cual afectó la disponibilidad óptima de O₂ en el interior del huevo; De Smit *et al* (2006)²⁷ ha medido la presión de CO₂ en la cámara de aire de huevos incubados con 15,000 ppm los primeros 10 días DE, determinando que la presión de CO₂ incrementa significativamente en estos huevos, ellos observaron que ésta presión de CO₂ permaneció aún después de restablecerse la ventilación estándar después del día 10 DE, sin embargo, ésta medición de CO₂, De Smit *et al* (2006)²⁷ la efectuaron al día 10 DE y durante un periodo subsecuente a este día, cuando la cámara de aire ya tiene un espacio apropiado para contener la mezcla de los principales gases de la incubación (N, O₂, CO₂ y H₂O) y por lo tanto

se tenía la capacidad de poder medirlos a través de una aguja como efectivamente lo realizaron De Smit *et al* (2006).²⁷

En el presente estudio, no se midió la presión de CO₂ en la cámara, por lo cual sería interesante determinar si la presión de CO₂ es específicamente más alta en los huevos con cutícula que en los que no la reciben; aunque debe quedar puntualizado en este aspecto que aún existen límites en la tecnología disponible para poder hacerlo, ésto debido a que la cámara de aire en la etapa de incubación primaria aún es muy pequeña; una alternativa a ello sería medir que tanto se altera la k del cascarón con y sin la aplicación de la cutícula a lo largo de todo el proceso que dura la incubación (504 hrs) (Ar *et al*, 1974),⁶ y determinar si la cutícula artificial en lugar de sufrir un proceso de degradación de forma análoga a como comúnmente sucede con la cutícula natural (4-6 días DE), ésta muestra una degradación más lenta, o bien al obliterar temporalmente algunos de los poros del cascarón como se efectuó en el presente estudio, esto muestra un efecto negativo agudo sobre la k del cascarón y por lo tanto sobre los parámetros de incubación, situación que factiblemente ocurrió, ya que al analizar la pérdida de peso en los huevos con cutícula y alta concentración de CO₂ del día 10 DE hasta el día 18 DE, se observó que estos mostraron una menor pérdida de peso en comparación al grupo testigo sin cutícula o bien a los grupos de baja concentración de CO₂, lo cual determinó una disminución del intercambio gaseoso a nivel del cascarón; una propuesta cognitiva es determinar de acuerdo a lo propuesto por Rhan y Ar (1974)³ la k de una muestra de huevos fértiles y posteriormente después de clasificar el grado de conductancia de cada huevo fértil en baja, media y alta, aplicar una cutícula artificial a una muestra de ellos y comparar su pérdida de peso e incubabilidad con la de huevos similares en k pero con

cutícula natural y con cutícula natural removida a través de lavados con hipoclorito de sodio (Peebles *et al*, 1987).⁴⁸

Peebles *et al* (1987)⁴⁸ determinaron que al remover la cutícula natural de huevos fértiles de aves reproductoras pesadas la mortalidad embrionaria temprana disminuye y la mortalidad embrionaria tardía se incrementa, esto especialmente en aves reproductoras de 48 semanas de edad, estos investigadores describen que el efecto sobre el desarrollo embrionario de remover la cutícula por medio de un lavado con hipoclorito de sodio depende de la cantidad y morfología de la cutícula natural presente en esos mismos huevos a los cuales no se les aplica ningún tratamiento de remoción de cutícula después de la ovoposición, de hecho concluye que la remoción de la cutícula provee de una herramienta para mejorar el intercambio gaseoso, siempre y cuando se efectúen ajustes apropiados de humedad en la incubadora para prevenir una excesiva pérdida de peso en forma de vapor de agua durante la incubación, por lo cual es importante delimitar algunas variables donde la remoción o agregación de cutícula puede ser aplicable, de la cuales quizá las más importantes son el tamaño del huevo, el grosor del cascarón, la edad de las aves reproductoras y la k del lote de huevos a incubar. Al comparar en el presente estudio, los parámetros de incubabilidad de los grupos de concentración media de CO₂ con cutícula, con los grupos experimentales de Juárez *et al* (2003)² y Enguilo (1994),⁴⁶ estos mostraron un comportamiento inferior aún cuando se incubaron con menor concentración de CO₂ que los del presente estudio. El tipo de cutícula utilizada en el presente estudio mostró un efecto negativo sobre la trayectoria de la incubación; la composición química de la cutícula utilizada fue diferente a las utilizadas por Juárez *et al* (2003)² y Enguilo (1994)⁴⁶ quienes determinaron un efecto positivo sobre la incubación de embriones de aves ligeras al utilizar la cutícula artificial, por lo cual se requiere

determinar un probable efecto favorable en el DE de embriones de aves reproductoras pesadas con el uso de una cutícula artificial con nueva formulación. Si bien De Smit *et al*, (2006)²⁷ y López (2011)²⁹ han descrito que la incubación temprana con altas concentraciones de CO₂ favorece el desarrollo embrionario temprano, el grupo con alta concentración de este gas y cutícula mostró el menor peso de los embriones a lo largo del estudio; Ar y Rhan (1979)²³ mencionan que el O₂ es imprescindible para el desarrollo embrionario y que el DE se ve limitado en relación directa con el grado de disponibilidad de O₂ en el interior del huevo, por lo cual es factible que la alta presión de CO₂ junto con la alteración en la conductancia del cascarón en los huevos con cutícula haya ocasionado baja disponibilidad de O₂ no únicamente en la cámara de aire, si no en toda la MCA primaria, rebasando los niveles benéficos de hipoxia que determinó Bahadoran *et al* (2010)³³ durante la incubación temprana de embriones incubados a una gran altitud sobre el nivel del mar; por lo cual en el presente estudio, esta situación de hipotensión interna de O₂ condujo a una menor tasa en el DE y por lo tanto a un menor peso de los embriones a lo largo del DE, esto en contraparte a los pesos de los embriones observados en los grupos testigos sin cutícula o incluso en los huevos con cutícula pero incubados con menor concentración de CO₂, donde los pesos embrionarios en base seca y húmeda fueron mucho mayores, los cuales consecuentemente al tener una mayor maduración embrionaria mostraron mejor incubabilidad e incluso el grupo testigo incubado con alta concentración de CO₂ mostró una disminución significativa de mortalidad embrionaria en la III fase de DE, que corresponde al momento crítico del cambio de respiración difusiva a convectiva, lo cual indica que un aspecto crítico para tener mayor cantidad de embriones robustos en esta fase que puedan afrontar de mejor forma esta etapa crítica del DE, es el grado de madurez fisiológica que se logra previamente a través de esta

metodología de ventilación restringida durante la incubación temprana de los embriones. Peebles *et al* (1998)⁴⁹ determinaron que los pesos de los embriones en base seca de un grupo de huevos de aves reproductoras de 52 semanas de edad, a los cuales se les removió la cutícula antes de la incubación, fueron mayores a los pesos de los embriones del grupo testigo al día 16 y 19 DE; sin embargo, a diferencia del presente estudio, Peebles *et al* (1998)⁴⁹ no determinaron ninguna diferencia entre el grupo sin cutícula y el grupo intacto en cuanto a incubabilidad o disminución de la mortalidad durante la etapa III del DE.

Es evidente que un aumento de CO₂ durante la primer mitad del proceso de incubación mostró un efecto positivo sobre el DE y la incubabilidad, aún, cuando la concentración de CO₂ fue mayor en 5,000 ppm a la concentración descrita por De Smit *et al* (2006)²⁷ como benéfica durante la primer mitad del proceso de la incubación en aves reproductoras Coob 500 Plus de 60 semanas de edad (10,000 ppm de CO₂), en las que De Smit *et al* (2006)²⁷ encontró diferencia significativa de 4 puntos porcentuales de incubabilidad entre el grupo incubado con hipercapnia (89.2%) y el grupo con ventilación similar a una incubación de tipo multietápica (85.3%). En el presente estudio al utilizar huevos fértiles provenientes de aves Ross 308 de 48 semanas de edad, la concentración fue mayor en 9,000 ppm con relación al grupo testigo que alcanzó 6,000 ppm de CO₂ al día 10 DE, lo cual indica que el aumento de CO₂ favoreció el desarrollo embrionario, la incubabilidad total, una eclosión más temprana, menor mortalidad embrionaria al momento de la transferencia (etapa III) y mejor calidad de los pollitos eclosionados, lo cual coincide ampliamente con los hallazgos descritos por De Smit *et al* (2006),²⁷ Bruggeman *et al* (2007),³⁰ Tona *et al* (2007),²² De Smit *et al* (2008),⁵⁰ y López (2011).²⁹ Aunque el máximo porcentaje de incubabilidad obtenido en el grupo testigo sin cutícula incubado con alta concentración de CO₂ fue menor al obtenido por De Smit *et al*

(2006),²⁷ este mantuvo una diferencia similar (5%) con relación al grupo testigo de concentración media de CO₂. De acuerdo a López (2011),²⁹ el efecto positivo de este tipo de ventilación contribuye a aumentar la velocidad de crecimiento y consecuentemente el peso de los embriones incubados bajo este sistema de ventilación. López (2011)²⁹ determinó como efecto benéfico principal debido a este mejor desarrollo embrionario, la disminución significativa de la mortalidad embrionaria en la tercer etapa del análisis de mortalidad (18-21 DE), etapa donde el cambio de respiración de difusiva a convectiva es uno de los aspectos fisiológicos más importantes ligados a un óptimo desarrollo del embrión, consecuente a un estímulo primario de tipo epigenético como lo es la incubación con altas concentraciones de CO₂ durante la primer mitad del periodo de incubación; en el presente estudio la disminución en mortalidad embrionaria fue significativamente evidente en el grupo de alta concentración de CO₂ sin cutícula donde se observó tan solo 0.6% de la mortalidad total observada, mientras que el resto de los grupos mostraron arriba de 2.5 puntos porcentuales de mortalidad durante esta etapa. Es factible que el aumento de mortalidad en esta etapa del desarrollo embrionario, está vinculada a un desbalance entre el alto requerimiento de oxígeno necesario para satisfacer las demandas metabólicas del rápido crecimiento embrionario, aunado proporcionalmente a un subdesarrollo del sistema cardiovascular y pulmonar como consecuencia de una menor tasa de DE en los grupos con baja o media tensión de CO₂ con cutícula durante la primer parte del proceso incubatorio; es interesante observar que la alta concentración de CO₂ junto con 5% de cutícula produjeron una alta mortalidad en la primer etapa del análisis de mortalidad embrionaria, sin embargo, en la tercer y cuarta etapa mostraron valores mucho menores que los dos grupos contrapartes que recibieron cutícula pero que fueron incubados con hasta 6,000 ppm de CO₂ los primeros 10 días de DE, lo cual

indica que los embriones de los grupos con cutícula e incubados durante la primera parte del DE con una alta concentración de CO₂ que sobreviven esta aparente etapa crítica del DE exacerbada por las dos variables aplicadas en la incubación durante los primeros 10 días DE, son capaces para respirar vía pulmonar y eclosionar favorablemente. Algo que queda sin precisar, es que la cantidad de CO₂ óptima para incubar durante los primeros 10 días DE, pudiera ser menor a la concentración de CO₂ manejada por De Smit *et al* (2006)²⁷ y a la observada en el grupo testigo sin cutícula y alta concentración del presente estudio (15,000 ppm), ya que la mortalidad embrionaria en este grupo durante la etapa I fue mayor (10%) a la del grupo testigo sin cutícula incubado con una concentración media de CO₂ (7%); de hecho, López (2011)²⁹ encontró menor mortalidad en esta etapa, que el grupo testigo, al incubar con hasta 9,000 ppm durante los primeros 10 días DE; por lo cual es necesario evaluar apropiadamente cual es la concentración óptima de CO₂ durante la etapa primaria de incubación que afecte en menor grado la mortalidad durante la primer parte del desarrollo embrionario. La mortalidad embrionaria en la etapa I, fue muy alta en el grupo con 5% de cutícula incubado con alta concentración de CO₂, lo cual indica que al modificar la conductancia de gases del cascarón existe un agotamiento temprano en el abastecimiento de O₂ lo cual dio como resultado una asfixia primaria, ocasionada por un desabasto de oxígeno, la alta concentración de CO₂ externa, una alta humedad relativa dentro del gabinete y por la incapacidad del embrión para eliminar el CO₂ acumulado, favorecido éste incremento de CO₂ por la modificación en la conductancia del cascarón que ocasionó la aplicación de la cutícula. La conductancia del cascarón afectada por la cutícula determinó una menor eliminación de peso de los huevos en los grupos que recibieron este tratamiento, aunque, se observó una mejor eliminación de vapor de agua en los grupos con mayor perfusión de gases por medio de

una mayor ventilación primaria (1-10 DE) como se observó en el tratamiento de media concentración de CO₂. La tasa de renovación de aire influye directamente para lograr una mayor pérdida de peso en los grupos de concentración media de CO₂, lo cual indica que aunque la cutícula altera la conductancia del cascarón, ésta se observa altamente influenciada por una mayor tasa de ventilación. Es evidente que la cutícula afecta la capacidad de conductancia de los gases a través del cascarón, y aunque la altura sobre el nivel del mar hace que la difusión de gases como el O₂ a través del cascarón sea mayor, la presión atmosférica disminuye la disponibilidad volumétrica total de gases, principalmente de O₂ (Tullet, 1984).⁵¹

Meir *et al* (1987)⁵² para encontrar la humedad óptima de incubación en huevos de pavo clasificaron estos en baja, media y alta conductancia del cascarón, encontraron 28% de huevos con baja conductancia, con media 47%, y con alta el 25% del total incubado, lo cual indica que el tratamiento con una cutícula para huevos con alta conductancia estaría indicado solo para la cuarta parte de todo el lote de huevos, el lavado y remoción de la cutícula natural para otra cuarta parte y menos de la mitad de los huevos cuenta con una conductancia del cascarón apropiada para la incubación bajo condiciones de humedad estándar (55%). La pérdida de peso óptima al día 18 DE como la registrada en el grupo testigo incubado bajo condiciones de alta concentración de CO₂, indica un balance hídrico apropiado a lo largo del periodo de incubación, lo cual se reflejó con una mejor incubabilidad. La porosidad del cascarón está determinada por tres factores: el número de poros, su área seccional transversal individual y su longitud. Un mecanismo para el control de la porosidad consiste en el número de sitios donde la calcificación del cascarón se inicia, la cantidad de estos sitios determina el número de columnas de calcita que existirán en el cascarón lo cual se encuentra

correlacionado positivamente con el número de poros. El número de columnas, en un área determinada del cascarón es inversamente proporcional al grosor del cascarón. Por lo cual es probable, que la distribución de las células de las glándulas coquiliarias que secretan la calcita sobre los sitios iniciales de deposición determinan el grado de porosidad del cascarón, por lo cual al final la presión evolucionaria que determina la porosidad del cascarón radica a nivel celular. Tullet (1984)⁵¹ sugirió que el volumen de líquido bombeado a través de las testáceas y el cascarón durante la formación de éste puede jugar un papel importante en determinar el área seccional transversal individual de los poros. El concepto de que el cascarón puede adaptarse y fijar características apropiadas en el huevo de acuerdo a los diferentes medioambientes del nido, en los cuales estos son incubados, ha sido considerado ya desde hace tiempo, existe una diversidad de estudios que determinan la variación en número de poros, ambientes y altitudes sobre el nivel del mar (Ar y Rhan, 1979; Bahadoran *et al*, 2010).^{23,33} Lo cual indica que además de la distribución del tipo de conductancia intrínseca existente en cada huevo de acuerdo a la estirpe, la edad del ave y el tamaño del huevo, cuando se deseen probar modificadores de la k del cascarón como la del tipo de la cutícula artificial experimental probada en el presente estudio o bien el lavado de la cutícula con hipoclorito de sodio, deberá determinarse apropiadamente el contexto de interacción genotipo-ambiente en las aves reproductoras. Aunque el porcentaje óptimo de pérdida de peso recomendado por Padrón *et al* (2005)⁵³ al día 10 DE es de 6.5%, el único grupo que se acercó a este parámetro fue el grupo testigo con concentración media de CO₂ sin cutícula, lo cual concuerda con lo observado por Rhan *et al* (1982)⁵⁴, quienes indicaron que la conductancia del cascarón juega un papel primordial en la pérdida de agua durante la incubación, ya que determina la cantidad de agua que será difundida a través de los poros mediante un gradiente de presión de vapor

entre el ambiente del huevo y su microclima. El grupo testigo de alta concentración de CO₂ sin cutícula después de mostrar una baja pérdida de peso al día 10 DE (4%) recibió un ajuste en la pérdida de peso de tipo no-lineal de acuerdo a lo descrito por Juárez *et al* (2010),⁵⁵ este grupo al día 18 DE perdió de forma no-lineal la cantidad de peso más apropiada (12.8%) en forma de vapor de agua, coincidentemente fue el que mostró el mayor porcentaje de incubabilidad, lo cual está en concordancia con lo indicado por Ar y Rhan (1985),⁷ quienes determinaron que un apropiado balance hídrico conduce consecuentemente a tener mayor cantidad de embriones nacidos; de hecho, DeSmit *et al* (2006)²⁷ a diferencia del presente estudio, no determinaron una diferencia significativa en incubabilidad entre un grupo de aves reproductoras de 45 semanas de edad (Cobb) incubados bajo condiciones de no-ventilación al nivel del mar alcanzando 15,000 ppm al día 10 DE y un grupo con ventilación estándar, lo cual indica que después de la altura sobre el nivel del mar y la estirpe empleada aquí (Roos 308), la pérdida de peso no-lineal es quizá una de las variables más importantes que contribuye a explicar el éxito incubatorio del grupo testigo sin cutícula e incubado con alta concentración de CO₂ los primero 10 días del DE. Banwell (2008)⁵⁶ por ejemplo, determinó que el efecto de pérdida de peso no lineal es mucho más efectiva en huevos provenientes de reproductoras de 46 a 54 semanas de edad logrando hasta un 1.43% de mejora global en la tasa de incubabilidad, en el presente estudio debido al efecto adicional de la alta concentración de CO₂ y posiblemente por la altura sobre el nivel del mar esta diferencia fue mayor (hasta 5%) con relación al grupo testigo sin cutícula y concentración media de CO₂. Es evidente también, que aunque los dos grupos de concentración media de CO₂ que recibieron la cutícula experimental pierden un peso apropiado al día 18 DE, mostraron menor incubabilidad, incluso que el grupo testigo del mismo sistema de ventilación, el cual perdió en esta misma fecha (18

DE) hasta 14% de humedad; lo cual indica que independientemente a la pérdida de peso en los huevos, la cutícula afectó el DE desde una etapa temprana. Esta afectación pudo determinarse desde el día 10 DE, donde los grupos testigo que no recibieron la cutícula, específicamente el de mayor concentración de CO₂ mostraron los mayores pesos de los embriones.

La cutícula artificial al alterar la conductancia del cascarón afecta el ingreso de O₂ después del día 10 DE en forma gradual, lo cual se pudo verificar con una mayor afectación del desarrollo embrionario observado aquí y con el incremento en la diferencia entre pesos de los embriones que tenían cutícula y los grupos testigos sin ésta, ya que independiente al tratamiento de CO₂ recibido durante la primera etapa de incubación, ambos grupos muestran mayor peso de los embriones conforme se acercan al cambio de respiración difusiva a convectiva (18.5 DE).

Aunque los resultados indican una trayectoria de crecimiento embrionario diferente durante la primera mitad del DE, posiblemente debida a las condiciones de hipoxia e hipercapnia registradas en los diferentes grupos, es hasta los 2 primeros tercios de la incubación (18 DE) donde entre los dos grupos testigo se determina una igualdad del DE indicada ésta por peso de los embriones estadísticamente indistinguibles entre ambos grupos, lo cual indica que posiblemente los mecanismos de adaptación de los embriones de media concentración de CO₂ implementados para alcanzar los requerimientos en el balance hídrico de los embriones fueron apropiados para llegar al peso de los embriones, pero no para solventar el cambio de respiración de difusiva a convectiva, ya que se observó mayor mortalidad embrionaria en esta etapa en este grupo (testigo con media concentración de CO₂) con relación al grupo de mayor incubabilidad registrado aquí (Testigo de alta concentración de CO₂). Es importante determinar si la incubación con altas concentraciones de CO₂ durante la primer mitad del

desarrollo embrionario de huevos con alta, media o baja conductancia en el cascarón es capaz de balancear y revertir los efectos negativos de un probable desbalance hídrico y de una inadecuada perfusión de O_2 previa y al momento de la transferencia.

CONCLUSIONES

- El uso de una cutícula artificial experimental, modifica negativamente la trayectoria de la incubación en los embriones de aves reproductoras pesadas Ross 308 de 48 semanas de edad, efecto que se exagera cuando la incubación se efectúa durante los primeros diez días del desarrollo embrionario con altas concentraciones de CO_2 .
- El aumento de CO_2 durante la primer mitad del proceso de incubación favoreció el desarrollo embrionario, el peso de los embriones, la incubabilidad total, una eclosión más temprana, menor mortalidad embrionaria al momento del cambio de respiración difusiva a convectiva además de obtener mejor calidad en los pollitos eclosionados.
- El uso de una cutícula artificial afecta la conductancia del cascarón de los huevos fértiles de aves reproductoras pesadas Ross 308 de 48 semanas de edad, ésta alteración modifica el intercambio gaseoso en diferentes grados y muestra un patrón de comportamiento en la incubación distinto con base al grado de modificación en la conductancia del cascarón, de las presiones parciales de O_2 , CO_2 , H_2O y el tiempo de aplicación de estas variables durante la primer mitad del proceso de incubación.
- Una pérdida de peso no-lineal, durante la incubación con altas concentraciones de CO_2 durante los primero 10 días de incubación favorece la viabilidad de los embriones.

LITERATURA CITADA

- 1. UNIÓN NACIONAL DE AVICULTORES.** Indicadores económicos. Producción pecuaria 2008, participación porcentual. (serie *online*) 2008. (Consultado el 28 de septiembre del 2011); (una página) Disponible en URL: http://www.una.org.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=164&Itemid=113
- 2. JUÁREZ EMA, QUINTANA LJA, PRADO ROF, ÁVILA GE.** Valoración del uso de una cutícula artificial en huevos incubables provenientes de aves pelechadas. Memorias de las IX Jornadas Médico Avícolas. 2003 febrero 19-21; Ciudad Universitaria (DF). México (DF): División de Educación Continua y Departamento de Producción Animal: Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM., 2003:219-222.
- 3. RAHN H, AR A.** The avian egg: incubation time and water loss. *Condor* 1974; 76:147-52.
- 4. PAGANELLI CV, OLSZOWKA A, AR A.** The avian egg: surface area, volume, and density. *Condor* 1974; 76, 319-25.
- 5. MEIR, M., AR, A.** Improving turkey poult quality by correcting incubator humidity to match eggshell conductance. *Br. Poul. Sci* 1987; 28, 337–342.
- 6. AR A, PAGANELLI CV, REEVES RB, GREENE DG, RAHN H.** The avian egg: water vapor conductance, shell thickness, and functional pore area. *Condor* 1974; 76, 153–158.
- 7. AR A, RAHN H.** Pores in avian eggshells: gas conductance, gas exchange and 1985.
- 8. SAHAN U, IPEK A, ALTAN O, YILMAZ-DIKMEN B.** Effects of oxygen supplementation during the last stage of incubation on broiler performance, ascites susceptibility and some physiological traits. *Anim Res* 2006; 55:145-152

9. **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. *Poul. Sci.* 1997; 76, 1029–1036.
10. **VÁZQUEZ JL, PRADO OF, GARCÍA LJ, Y JUÁREZ MA.** 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.
11. **WILLIAMS TD,** 1994. Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. *Biol. Rev.* 68, 35–59.
12. **QUINTANA LJA.** Calidad del huevo incubable. XI Ciclo de Conferencias Internacionales sobre Avicultura. CP, AMENA, ANECA. Mexico D.F. 1993. Ppp 181-202. FMVZ UNAM
13. **NORTH MO.** Manual de producción avícola 2^a ed. Manual Moderno. México. D.F. 1986
14. **BELL DF, HALLS NA.** *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl.* Academic Press. New York, 1971
15. **BOARD RG, HALLS NA.** The cuticle: A barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. *Brit Poult Sci* 1973; 14:69-97.
16. **SISSON S, GROSSMAN JD.** *Anatomía de los animales domésticos.* 5^a ed. Salvat. Mexico D.F., 1982
17. **STADELMAN WJ, COTTERILL OJ.** *Egg Science and Technology.* 3th ed. The Avi Publishing Company INC. Connecticut, 1986
18. **SPARKS NHC, BOARD RG.** Cuticle shell porosity and water uptake through hen's eggshell. *Brit Polt Scie* 1984; 25: 267-276
19. **PADRON NM.** Factores que influyen la penetración de las bacterias a través del cascarón. I curso de manejo para la prevención de problemas aviares. UNAM. FMVZ. Departamento de

Producción Animal: Aves. Mexico D.F. 1989. 79-83. Fac. de Med. Vet. y Zoot. DPA: Aves. Mexico D.F. 1989

20. CACHO, RAJ. Relación de la gravedad específica y su relación con el grosor de la cutícula de huevos de reproductoras pesadas de 60 semanas de edad. Memorias de la XVI Convención Anual ANECA, Acapulco Guerrero, Abril 1991

21. TULLETT SG, DEEMING DC. The relationship between eggshell porosity and oxygen consumption of the embryo in the domestic fowl. *Comp Bioch Physiol* 1982; 72A:529-533.

22. TONA K, ONAGBESAN O, BRUGGEMAN V, DE SMIT L, FIGUEIREDO D. Non-ventilation during early incubation in combination with dexamethasone administration during late incubation: 1. Effects on physiological hormone levels, incubation duration and hatching events. *Comp Bioch Physiol* 2007; 4:150-175.

23. AR A, RAHN H. Interdependence of gas conductance, incubation length, and weight of the avian egg. *Resp Funct in Birds, Adult and Embryo* 1979; 227-236.

24. SADLER WW, WILGUS HS, BUSS EG. Incubation factors affecting hatchability of poultry eggs. *Poult. Sci.* 1954; 33:1108–1115.

25. OWEN J. Principles and problems of incubator design: Avian incubation. Butterworth-Heinemann 1991; 205–224.

26. GILDERSLEEVE RP, BOESCHEN DP. The effects of incubator carbon dioxide level on turkey hatchability. *Poult Sci* 1983; 62:779–784

27. DE SMIT L, BRUGGEMAN V, TONA JK, DEBONNE M, ONAGBESAN O, ARCKENS L. 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; 145:166-175.

- 28. WILLEMSSEN H, EVERAERT N, WITTERS A, DE SMIT L, DEBONNE M, VERSCHUERE F.** Critical assessment of chick quality measurements as an indicator of post hatch performance. *Poult Sci* 2008; 87:2358-2366.
- 29. LÓPEZ REI.** Desarrollo embrionario durante la incubación con incremento gradual de CO₂ en huevos fértiles de gallina doméstica (*Gallus gallus*). Tesis (Licenciatura) DF, México; Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, 2011
- 30. BRUGGEMAN V, WITTERS A, DE SMIT L, DEBONNE M, EVERAERT N, KAMERS B.** Acid–base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO₂ concentrations during the first 10 days of incubation. *Resp Physiol & Neurobiol* 2007; 159:147-154.
- 31. TAYLOR LW, SJODIN RA, GUNNS CA.** The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 1. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the first four days of incubation upon hatchability. *Poult Sci* 1956; 35:1206-1215.
- 32. TAYLOR LW, KREUTZIGER GO.** The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 2. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the fifth through the eight days of incubation. *Poult Sci* 1965; 44:98-106.
- 33. 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.
- 35. MEIR M, TAZAWA H.** Effects of drilling holes into the air cell of incubated goose eggs on distribution of oxygen partial pressures under the shell. *British Poult Sci* 1999, 40: 472- 477
- 36. 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

37. 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; 84:914-920.

38. ONAGBESAN OM, TONA K, 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.

39. BOERJAN M. Maximizando la uniformidad y la calidad de los pollitos. Boletín AP, Pass Reform Hatchery Technologies 2005; 23:18-23.

40. WOLANSKY N, RENEMA A. Relationships between chicks. Conformation and quality measures with early growth traits in males of eight selected pure or commercial broiler breeder strains. Poult Sci 2006; 85:1490-1497.

41. LÓPEZ CS, JUÁREZ EMA, PRADO ROF. Una escala no invasiva para la clasificación de la 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. 1-9pp.

42. MAULDIN JM, MASOERO S, SANTOS J, FAIRCHILD BD. Predicting chick quality: Which is best - chick length or hatch day body weight? The University of Georgia, College of Agricultural and Environmental Sciences, Cooperative Extension Service, Poult Fact Sheet. Sept. 2008. 4pp.

43. PETEK M, ORMAN A, DIKMEN S, ALPAY F. Relations between day-old chick length and body weight in broiler, quail and layer. Uludag Univ J Fac Vet Med 2008;27:25-28.

- 44. JUÁREZ EMA, LÓPEZ CS, LEDESMA MN.** El embriodiagnóstico como herramienta imprescindible para la evaluación del proceso de incubación en aves domésticas. XIX Congreso Nacional de Patología Veterinaria 2010. Villahermosa (Tabasco) México. S.M.P.V., A.C. 525-535
- 45. GILL JL.** Design and analysis of experiments in the animal and sciences. Vol. 1 Ames (Io): The Iowa State University Press, 1978.
- 46. ENGUILO MBL.** Efecto de la aplicación de una cutícula artificial a base de albúmina, sobre el cascarón en la incubabilidad de huevos de gallinas de 58 semanas de edad. Tesina de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 1994.
- 47. FASENKO GM, ROBINSON FE, FEDDES JJR, SEGURA J.** Examining the Embryonic Metabolism of Short and Long Term Stored Eggs. Editors, Frank Robinson, Rob Renema and Gaylene Fassenko, New Developments in Reproduction and Incubation of Broiler Chickens. Spotted Cow Press, Edmonton, Canada, 2003. 287-292.
- 48. PEEBLES ED, BRAKE J, GILDERLEEVE RP.** Effects of eggshell cuticle removal and incubation humidity on embryonic development and hatchability of broilers. Poult Sci 1987; 66:834-840.
- 49. PEEBLES ED, PANSKY T, DOYLE SM, BOYLE CR, SMITH TW, LATOUR MA.** Effects of dietary fat and eggshell cuticle removal on egg water loss and embryo growth in broiler hatching eggs. Poult Sci 1998; 77: 1522-1530.
- 50. DE SMIT L, BRUGGEMAN V, DEBONNE M, TONA JK, KAMERS B, EVERAERT N.** The effect of nonventilation during early incubation on embryonic development of chicks of two commercial broiler strains differing in ascites susceptibility. Poult Sci 2008; 87:551-560.
- 51. TULLETT SG.** The porosity of avian eggshells. Comp Biochem Physiol 1984;78:5-13.

- 52. MEIR M, AR A.** Improving turkey poult quality by correcting incubator humidity to match eggshell conductance. *Br Poul Sci* 1987;28: 337–342.
- 53. PADRÓN M, FANCHER B, GAYTAN E, MALAGÓN G.** Influencia del Tiempo de Nacimiento sobre el Desempeño del Pollito Durante la Primera Semana. Aviagen Inc 2005.
- 54. RAHN H, ACKERMAN A, PAGANELLI CV.** Humidity in the avian nest and egg water loss during incubation. *Physiol. Zool.* 1982, 50:269-283.
- 55. JUÁREZ EMA, LÓPEZ CS, PRADO ROF.** Efecto de la disminución de pérdida de peso del huevo incubado durante la primera mitad del desarrollo embrionario sobre parámetros de incubabilidad. XXXV Convención Anual ANECA 2010. 28 de abril al 1 de mayo del 2010. Oaxaca de Juárez (Oaxaca) México. México (DF) ANECA, AC. 189-201.
- 56. BANWELL R.** Más pollos y de mejor calidad con el sistema de Petersime de pérdida de peso. *Boletín Técnico. Petersime N.V.* 2008:1-4.

CUADROS

Cuadro 1. Parámetros de incubación y mortalidad embrionaria en huevos (estirpe Ross 308) con cutícula artificial incubados con concentraciones crecientes de CO₂ durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Tratamiento	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Fertilidad aparente**	95.5±5.13 ^A	92.2±6.41 ^A	98.9±1.28 ^A	92.2 ±1.28 ^A	97.8 ± 2.57 ^A	88.9±5.13 ^A
Incubabilidad**	65.2 ±3.50 ^C	65.3±4.54 ^{BC}	86.4±7.42 ^A	72.3±1.78 ^{ABC}	70.2±13.90 ^{ABC}	81.8±11.94 ^{AB}
Natalidad**	62.2±0.00 ^B	60.0±0.00 ^B	85.3±6.18 ^A	66.7±2.57 ^{AB}	68.9±15.4 ^{AB}	72.2±6.41 ^{AB}
Etapa I***	17.8% ^A	10.0% ^B	10.0 ^B	3.33% ^D	4.44% ^D	7.77% ^C
Etapa II***	11.65% ^B	18.91% ^A	2.22% ^C	7.23% ^B	5.61% ^B	2.51% ^C
Etapa III***	2.41% ^B	2.5% ^B	0.62% ^C	5.28 ^B	8.41% ^A	3% ^B
Etapa IV***	0.73% ^C	0.72% ^C	0.5% ^D	4.83% ^B	6.02% ^A	1.24% ^C

* Se restringió la ventilación, alta CO₂ ppm y media CO₂ ppm durante los primeros 10 días del desarrollo embrionario, los huevos previamente recibieron un tratamiento de cutícula artificial. Incubadora Sportsman Mod. 512

**Valor porcentual ± desviación estándar a partir de 45 huevos por tratamiento; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente, Scheffe (P<0.05) n=4

***Valor porcentual promedio de mortalidad embrionaria; valores en la misma fila con diferente letra superíndice difieren significativamente, prueba χ^2 (P < 0.05)

Cuadro 2. Peso del huevo, pérdida de peso y temperatura promedio durante la incubación de huevos de gallina de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Parámetro	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Peso inicial del huevo (g) **	67.72 ± 4.97 ^A	66.34±5.23 ^A	67.44±4.80 ^A	68.23±4.90 ^A	68.14±4.02 ^A	66.88±4.60 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 10 **	3.39±0.41 ^C	3.58±0.67 ^{BC}	4.01±0.70 ^B	4.62±0.58 ^A	4.90±0.84 ^A	5.21±0.80 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 12 **	5.38±0.75 ^C	5.53±0.67 ^{BC}	6.39±1.12 ^{ABC}	6.53±1.02 ^{ABC}	7.37±1.35 ^{AB}	8.189±2.03 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 14 **	6.65±0.84 ^C	7.14±1.04 ^C	7.83±1.07 ^{BC}	8.68±0.41 ^{AB}	8.75±0.74 ^{AB}	9.83±0.97 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 16 **	8.64±0.55 ^A	8.48±1.96 ^A	7.97±2.19 ^A	8.96±1.27 ^A	8.92±1.60 ^A	10.06±1.13 ^A
Porcentaje pérdida de peso día 18**	10.13±1.65 ^C	9.98±1.56 ^C	12.85±3.13 ^{AB}	11.14±2.89 ^{BC}	11.26±1.87 ^{BC}	14.08±2.8 ^A
T° Celsius. Días 1-18 ***	37.52±0.28 ^A	37.52±0.28 ^A	37.52±0.28 ^A	37.52±0.28 ^A	37.52±0.28 ^A	37.52±0.28 ^A
T° Celsius. Días 19-21***	36.9 ±0.00 ^A	36.9±0.00 ^A	36.9±0.00 ^A	36.9 ±0.00 ^A	36.9±0.00 ^A	36.9 ±0.00 ^A

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días del 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.

***Promedio de temperatura en grados centígrados por periodo. N=Dos máquinas Sportsman Mod. 512

Cuadro 3. Inicio de picaje externo, término y duración de ventana de nacimientos de pollitos provenientes de huevos de la estirpe Ross 308 (*Gallus gallus*) incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Parámetro	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Inicio PE**	520.0 ± 0.00 ^A	519.0 ± 8.08 ^A	492.0 ± 0.00 ^B	531.0 ± 5.77 ^A	524.0 ± 13.85 ^A	496.0 ± 4.62 ^B
Término nacimientos**	528.0 ± 9.24 ^A	536.0 ± 0.00 ± ^A	528.0 ± 9.24 ^A	536.0 ± 0.00 ^A	538.0 ± 2.30 ^A	528.0 ± 9.24 ^A
Duración ventana**	8.0 ± 9.24 ^C	17.0 ± 8.08 ^{BC}	36.0 ± 9.24 ^A	5.0 ± 5.77 ^C	14.0 ± 11.55 ^{BC}	32.0 ± 4.61 ^{1BC}

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días del 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= Dos máquinas Sportsman Mod. 512

Cuadro 4. Calidad, de los pollitos provenientes de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Parámetro	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Excelente (%)**	0.00 ± 0.00 ^B	18.75 ± 7.22 ^B	60.20 ± 2.66 ^A	18.25 ± 4.58 ^B	14.70 ± 16.98 ^B	50.00 ± 11.55 ^A
Bueno (%)**	56.25 ± 7.22 ^A	43.75 ± 21.65 ^A	36.68 ± 6.27 ^A	63.49 ± 9.14 ^A	45.29 ± 29.20 ^A	36.67 ± 3.85 ^A
Regular (%)**	18.75 ± 21.65 ^A	18.75 ± 7.22 ^A	3.12 ± 3.61 ^A	0.00 ± 0.00 ^A	20.0 ± 23.09 ^A	0.00 ± 0.00 ^A
Deficiente (%)**	0.00 ± 0.00 ^A	6.25 ± 7.22 ^A	0.00 ± 0.00 ^A	12.7 ± 1.83 ^A	20.0 ± 23.09 ^A	6.66 ± 7.70 ^A
Inaceptable (%)**	25.0 ± 14.43 ^A	12.5 ± 14.43 ^{AB}	00.0 ± 0.00 ^B	5.55 ± 6.41 ^{AB}	0.00 ± 0.00 ^B	6.66 ± 7.60 ^{AB}

* Se restringió la ventilación durante los primeros 10 días del 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= Dos máquinas Sportsman Mod. 512

Cuadro 5. Concentración de O₂ y CO₂ registrados a partir del primer día de incubación de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Día de incubación	Alta concentración de CO ₂	Media concentración de CO ₂	Alta concentración de CO ₂	Media concentración de CO ₂
	O ₂ *	O ₂ *	CO ₂ *	CO ₂ *
Día 0**	20.3 ± 0.00 ^A	20.2 ± 0.00 ^A	2830 ± 0.00 ± ^A	1580 ± 0.00 ^B
Día 1**	20.3 ± 0.00 ^A	20.2 ± 0.00 ± ^A	2760 ± 0.00 ± ^A	1550 ± 0.00 ^B
Día 2**	20.3 ± 0.00 ^A	20.6 ± 0.00 ^A	3860 ± 0.00 ^A	1750 ± 0.00 ^B
Día 3**	20.2 ± 0.00 ^A	20.6 ± 0.00 ^A	4980 ± 0.00 ^A	2030 ± 0.00 ^B
Día 4**	20.1 ± 0.00 ^A	20.6 ± 0.00 ^A	6190 ± 0.00 ^A	2540 ± 0.00 ^B
Día 5**	20.1 ± 0.00 ^A	20.5 ± 0.00 ^A	7300 ± 0.00 ^A	2570 ± 0.00 ^B
Día 6**	19.7 ± 0.00 ^A	20.3 ± 0.00 ^A	7800 ± 0.00 ^A	3000 ± 0.00 ^B
Día 7**	20.0 ± 0.00 ^A	20.4 ± 0.00 ^A	10940 ± 0.00 ^A	2520 ± 0.00 ^B
Día 8**	19.6 ± 0.28 ^A	20.1 ± 0.21 ^A	11670 ± 0.21 ^A	4800 ± 0.28 ^B
Día 9**	20.4 ± 0.28 ^A	20.3 ± 0.21 ^A	15460 ± 2319.31 ^A	6035 ± 685.89 ^B
Día 10**	20.5 ± 0.10 ^A	20.5 ± 0.05 ^A	3036 ± 702.09 ^A	3030 ± 696.35 ^A
Día 11**	20.5 ± 0.10 ^A	20.5 ± 0.10 ^A	2785 ± 32.71 ^A	2610 ± 102.96 ^B
Día 12**	20.3 ± 0.13 ^A	20.4 ± 0.11 ^A	3167 ± 252.88 ^A	3135 ± 442.93 ^B
Día 13**	20.4 ± 0.20 ^A	20.4 ± 0.20 ^A	3677 ± 84.30 ^A	3788 ± 160.30 ^A
Día 14**	20.3 ± 0.34 ^A	20.3 ± 0.32 ^A	3759 ± 459.64 ^A	4030 ± 412.69 ^A
Día 15**	20.05 ± 0.00 ^A	20.5 ± 0.05 ^A	3455 ± 100.94 ^A	3457 ± 32.66 ^A
Día 16**	20.4 ± 0.15 ^A	20.5 ± 0.10 ^A	3297 ± 100.53 ^B	3675 ± 30.17 ^A
Día 17**	20.5 ± 0.10 ^A	20.5 ± 0.10 ^A	2813 ± 152.80 ^B	3210 ± 96.75 ^A
Día 18**	20.4 ± 0.05 ^A	20.5 ± 0.00 ^A	2367 ± 105.77 ^B	2723 ± 102.50 ^A

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas correspondientes a cada día del periodo de incubación indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N= Dos máquinas Sportsman Mod. 512

Cuadro 6. Condiciones ambientales registradas en la sala a partir del primer día de incubación de huevos de gallina ligera de la estirpe Ross 308 incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del desarrollo embrionario

Día de incubación	O ₂ (%)	CO ₂ (ppm)	Humedad Relativa (%)	Temperatura (°C)
Día 0*	20.80±0.00 ^{AB}	1160±0.00	51.75±4.48 ^{CD}	24.15±1.55 ^{ABC}
Día 1*	20.80±0.00 ^{AB}	1160 ±0.00	49.50±0.70 ^{CD}	25.30±0.00 ^A
Día 2*	20.60±0.00 ^B	1130 ±0.00	60.55±4.50 ^{AB}	23.55±0.99 ^{BCDE}
Día 3*	20.80±0.00 ^{AB}	1310 ±0.00	63.00±5.29 ^{AB}	23.55±1.10 ^{BCDE}
Día 4*	20.80±0.00 ^{AB}	1180 ±0.00	61.75±3.77 ^{AB}	23.95±1.59 ^{ABCD}
Día 5*	20.60±0.00 ^B	940 ±0.00	52.75±3.77 ^C	24.62±0.48 ^{AB}
Día 6*	20.80±0.00 ^{AB}	1140 ±0.00	60.25±2.50 ^B	22.87±1.03 ^{CDEFG}
Día 7*	20.70±0.00 ^{AB}	1130 ±0.00	60.25±1.50 ^B	23.37±0.99 ^{BCDEF}
Día 8*	20.80±0.00 ^{AB}	1020±0.00	62.25±2.87 ^{AB}	23.12±1.03 ^{BCDEFG}
Día 9*	20.65±0.70 ^B	1260 ± 197.99	65.75±6.99 ^{AB}	22.57±1.32 ^{DEFGH}
Día 10*	20.66±0.25 ^B	1310 ±122.88	62.75±3.40 ^{AB}	22.12±1.18 ^{EFGH}
Día 11*	20.77±0.05 ^{AB}	1107 ±161.97	64.00±7.35 ^{AB}	22.52±1.21 ^{DEFGH}
Día 12*	20.73±0.58 ^{AB}	1247±241.31	65.50±5.26 ^{AB}	23.52±1.08 ^{BCDE}
Día 13*	20.63±0.15 ^B	1323±66.59	63.75±7.59 ^{AB}	22.72±0.55 ^{CDEFGH}
Día 14*	20.70±0.00 ^{AB}	1240±155.56	68.25±2.99 ^A	22.87±0.42 ^{CDEFG}
Día 15*	20.70±0.00 ^{AB}	1170±70.00	66.67±2.50 ^{AB}	22.75±0.29 ^{CDEFGH}
Día 16*	20.70±0.00 ^{AB}	1173±123.42	62.62±3.94 ^{AB}	21.57±0.87 ^{GH}
Día 17*	20.60±0.10 ^B	1153±120.14	62.62±1.49 ^{AB}	21.25±0.50 ^H
Día 18*	20.70±0.10 ^{AB}	1220±72.11	61.25±4.78 ^{AB}	21.60±1.09 ^{GH}
Día 19*	20.50±0.00 ^B	1227±25.17	47.25±3.94 ^{CD}	21.87±0.25 ^{FGH}
Día 20*	20.67±0.17 ^B	1277±96.05	45.37±2.43 ^U	21.80±0.35 ^{GH}
Día 21*	21.00±0.00 ^A	1800±0.00	49.00±0.00 ^{C^D}	19.00±0.00 ^I

*Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre cada día del periodo de incubación por columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N= Dos máquinas Sportsman Mod. 512

Cuadro 7. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de 10 días de desarrollo embrionario incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del periodo de incubación

Embriones 10 D.E.	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Embrión BH (g.)**	2.46±0.28 ^{AB}	2.43±0.59 ^{AB}	2.92±0.42 ^A	2.17±0.50 ^B	2.18±0.33 ^B	2.69±0.21 ^{AB}
Embrión B.S. (g.)**	0.18±0.03 ^A	0.18±0.05 ^A	0.20±0.03 ^A	0.14±0.03 ^B	0.14±0.05 ^B	0.18±0.06 ^A
S. V. B. H. (g.)**	21.82±3.55 ^{AB}	20.16±2.78 ^{AB}	23.00±2.71 ^{AB}	24.38±4.08 ^A	20.07±3.69 ^B	25.18±3.74 ^A
S. V. B. S. (g.)**	7.71±0.69 ^{AB}	7.41±0.97 ^{AB}	7.57±1.04 ^{AB}	9.10±1.28 ^A	7.35±1.82 ^{AB}	9.41±0.66 ^A
Embrión BH (%)**	3.61±0.57 ^{AB}	3.63±1.00 ^{AB}	4.19±0.70 ^A	3.07±0.80 ^B	3.20±0.50 ^B	3.95±0.41 ^A
Embrión B.S. (%)**	0.27±0.06 ^{AB}	0.28±0.09 ^{AB}	0.34±0.05 ^A	0.20±0.04 ^B	0.23±0.07 ^B	0.30±0.10 ^{AB}
S.V. B. H. (%)**	32.23±4.14 ^{AB}	29.79±3.47 ^B	32.98±4.05 ^{AB}	34.35±5.90 ^A	28.02±5.37 ^B	32.25±4.45 ^{AB}
S.V. B. S. (%)**	11.29±1.05 ^{AB}	10.76±1.48 ^B	11.81±1.41 ^{AB}	12.78±1.71 ^A	10.21±1.69 ^B	11.40±1.50 ^{AB}

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento

Cuadro 8. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de 12 días de desarrollo embrionario incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del periodo de incubación

Embriones 12 D.E.	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Embrión B.H. (g.)**	4.66± 0.42 ^C	5.03± 0.90 ^{BC}	6.39± 0.68 ^A	4.42± 0.31 ^C	4.06± 0.41 ^C	5.98± 0.78 ^{AB}
Embrión B.S. (g.)**	0.35 ±0.08 ^C	0.42± 0.06 ^{BC}	0.55± 0.06 ^A	0.33 ±0.03 ^C	0.31± 0.05 ^C	0.49 ± 0.08 ^{AB}
S.V. B.H. (g.)**	22.16±3.94 ^{AB}	24.98±3.60 ^A	22.34±3.08 ^{AB}	25.26±3.78 ^A	21.93±2.88 ^B	22.15±2.51 ^{AB}
S. V. B.S (g.)**	8.54±1.29 ^{AB}	8.96±0.68 ^A	8.77±1.98 ^{AB}	9.18±1.47 ^A	8.09±0.95 ^B	8.57±1.02 ^{AB}
Embrión BH (%)**	6.74±0.97 ^B	7.53±1.08 ^{AB}	9.32± 1.10 ^A	6.53± 0.38 ^B	7.21±0.65 ^{AB}	9.00 ±1.58 ^A
Embrión B.S. (%)**	0.50± 0.12 ^C	0.64± 0.09 ^{BC}	0.81± 0.11 ^A	0.49±0.13 ^C	0.62± 0.07 ^{BC}	0.73± 0.16 ^{AB}
S. V. B.H (%)**	36.28± 6.63 ^A	37.50±6.50 ^A	32.51±4.43 ^B	37.22±4.65 ^A	31.90 ±4.17 ^B	33.21±3.63 ^B
S. V. B.S (%)**	12.74±1.62 ^A	13.60±1.52 ^A	11.96±2.75 ^B	13.53 ±1.81 ^A	11.78 ±1.41 ^B	12.09±1.80 ^B

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento.

Cuadro 9. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de 14 días de desarrollo embrionario incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del periodo de incubación

Embriones 14 D.E.	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Embrión BH (g.)**	9.80±1.25 ^{BC}	9.95 ± 1.18 ^{BC}	13.35±1.34 ^A	9.37±0.75 ^C	9.04± 1.32 ^C	11.77±1.71 ^{AB}
Embrión B.S. (g.)**	0.95± 0.17 ^{BC}	0.96±0.15 ^{BC}	1.57±0.29 ^A	0.87± 0.12 ^C	0.84± 0.14 ^C	1.22± 0.26 ^{AB}
S. V.	17.07±2.06 ^{AB}	17.64 ± 4.28 ^{AB}	16.53 ±4.61 ^B	18.99 ± 4.69 ^A	18.66 ±2.30 ^A	16.59 ±2.59 ^B
B.H(g.)**						
S. V.	7.59 ±1.22 ^B	7.88 ±1.84 ^{AB}	7.53 ±1.51 ^B	8.40 ± 1.90 ^A	8.68 ±0.97 ^A	7.54 ±1.71 ^B
B.S(g.)**						
Embrión B. H. (%)**	14.08±1.57 ^{BC}	14.62±1.87 ^{BC}	19.40±2.76 ^A	13.09±1.03 ^C	12.52±1.67 ^C	17.42±2.26 ^{AB}
Embrión B. S.(%)**	1.37 ± 0.21 ^{BC}	1.39±0.24 ^{BC}	2.28±0.49 ^A	1.22 ± 0.18 ^C	1.16± 0.19 ^C	1.81±0.36 ^{AB}
S. V.	24.68±3.93 ^{AB}	25.91±6.27 ^A	23.89±3.33 ^B	26.55±3.56 ^A	25.95±3.66 ^A	24.44±2.38 ^{AB}
B.H(%)**						
S. V. B. S (%)**	11.59±2.04 ^{AB}	11.95±2.78 ^{AB}	11.16±3.41 ^B	12.24±2.61 ^A	12.17±1.48 ^A	11.52±1.94 ^{AB}

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento

Cuadro 10. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de 16 días de desarrollo embrionario incubados con ventilación restringida y dos concentraciones de cutícula durante la primera mitad del periodo de incubación

Embriones 16 D.E.	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Embrión B. H. (g.)**	14.30±2.33 ^B	17.69±2.77 ^{AB}	21.25 ±3.18 ^A	15.63 ±1.83 ^B	14.84 ±1.46 ^B	16.58±2.71 ^{AB}
Embrión B. S. (g.)**	1.89 ±0.82 ^B	2.69 ± 0.81 ^{AB}	3.16 ± 0.65 ^A	1.96 ± 0.50 ^B	2.17 ± 0.62 ^{AB}	2.96 ± 0.46 ^{AB}
S. V. B.H. (g.)**	10.00 ±6.52 ^B	12.18 ± 3.89 ^{AB}	15.54 ±4.28 ^{AB}	13.04±2.76 ^{AB}	14.66 ±3.21 ^{AB}	18.29 ± 3.58 ^A
S. V. B.S. (g.)**	4.36 ±2.85 ^C	5.69±0.81 ^{BC}	7.61±1.69 ^A	6.31 ± 1.48 ^B	6.89±1.68 ^B	7.72 ±1.15 ^A
Embrión B. H. (%)**	21.45±6.50 ^B	27.39±2.92 ^{AB}	30.46±4.84 ^A	22.98±1.89 ^B	21.05±2.51 ^B	24.94±3.67 ^{AB}
Embrión B. S. (%)**	2.84±1.24 ^B	4.14 ±0.98 ^A	4.53±0.92 ^A	2.91±0.80 ^B	2.76±0.86 ^B	3.50±0.84 ^{AB}
S. V. B.H. (%)**	14.90±7.61 ^C	19.21±6.87 ^B	22.30±6.42 ^A	19.43±5.27 ^B	20.66±4.17 ^{AB}	21.81±6.35 ^A
S. V. B.S. (%)**	6.50±3.21 ^C	8.70±2.92 ^B	10.93±2.59 ^A	9.32±2.23 ^B	9.78±2.37 ^{AB}	10.78±1.94 ^A

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento

Cuadro 11. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de 18 días de desarrollo embrionario incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del periodo de incubación

Embriones 18 D.E.	Alta [CO ₂] C. 5%*	Alta [CO ₂] C. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/C*	Media [CO ₂] C. 5%*	Media [CO ₂] C. 2.5%*	Media [CO ₂] S/C*
Embrión B. H. (g)**	18.52±5.58 ^B	18.36 ± 5.33 ^B	26.02 ±5.78 ^A	22.54 ±4.26 ^{AB}	21.29 ±4.3 ^{AB}	26.94 ±2.19 ^A
Embrión B. S. (g)**	2.90±1.25 ^B	2.83±1.23 ^B	4.29±1.27 ^A	3.72±1.07 ^A	3.49±0.90 ^{AB}	4.68±0.44 ^A
S. V. B. H. (g.)**	20.94±4.97 ^{AB}	22.82±5.01 ^A	18.81 ±2.65 ^B	20.23 ±0.52 ^{AB}	20.68 ±2.48 ^{AB}	18.24±1.62 ^B
S. V. B. S. (g.)**	7.79 ±1.83 ^{AB}	8.78 ±1.29 ^A	6.96±0.99 ^B	8.23±0.88 ^A	8.37±0.55 ^A	6.57±0.43 ^B
Embrión B. H (%)**	27.04±4.27 ^B	26.98±5.66 ^B	38.87±6.78 ^A	26.92±6.29 ^B	31.05±6.54 ^{AB}	32.36±6.00 ^{AB}
Embrión B. S. (%)**	4.95±0.73 ^{AB}	4.25±1.88 ^B	6.40±1.84 ^A	4.17±1.81 ^B	5.10±1.37 ^{AB}	5.35±1.53 ^{AB}
S. V. B. H. (%)**	27.01±1.77 ^B	29.99±5.53 ^{AB}	28.22±3.30 ^{AB}	32.82±5.37 ^A	30.16±4.00 ^{AB}	29.13±2.25 ^{AB}
S. V. B. S. (%)**	11.44±1.31 ^B	12.82±2.45 ^A	12.44±1.17 ^{AB}	13.72±1.61 ^A	12.83±1.82 ^A	12.77±0.67 ^A

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento

Cuadro 12. Peso de embriones y órganos de huevos de gallina (*Gallus gallus*) de la estirpe Ross 308 de un día post eclosión incubados con ventilación restringida durante la primera mitad del periodo de incubación

Eclosión	Alta [CO ₂] Cut. 5%*	Alta [CO ₂] Cut. 2.5%*	Alta [CO ₂] S/Cut*	Media [CO ₂] Cut. 5%*	Media [CO ₂] Cut. 2.5%*	Media [CO ₂] S/Cut*
Embrión B. H. (g)**	37.21±2.15	39.04 ±2.77	37.92±2.68	37.11±2.57	36.94 ±2.22	35.61 ±3.80
Embrión B. S. (g)**	7.96±0.64	8.10 ±0.92	7.52 ± 0.72	7.58 ±1.51	7.34 ±0.93	7.58±0.63
S. V. B. H. (g.)**	7.28 ±1.16	7.59 ±1.54	8.36±1.32	7.32± 1.51	8.55 ±1.07	8.57 ±1.49
S. V. B. S. (g.)**	3.80±0.70	3.88 ± 0.82	4.25±0.54	4.25 ±1.57	4.58±0.67	4.35±0.72

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

**Literales diferentes en superíndice al valor referido ± desviación estándar comparadas entre grupos en cada una de las filas indican diferencia estadística significativa (P<0.05). N=20 Embriones por tratamiento