

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**



**Unidad Xochimilco**

---

---

**Casa abierta al tiempo**

**MAESTRIA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**EFFECTO DE LA LUZ Y SUPLEMENTACIÓN CON dl-alfa tocoferil EN EL  
DESARROLLO EMBRIONARIO Y CALIDAD AL NACIMIENTO DEL  
POLLITO**

**TESIS**

(Idónea comunicación de resultados)  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA  
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA

**M.V.Z. Rocio Azhzil López Zárate**

COMITÉ TUTORIAL:

Co. Tutor. **Dr. José Antonio Herrera Barragán**

Co. Tutor. **Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez**

Asesor. **M. en C. Ricardo Ruiz Sánchez**

**CIUDAD DE MÉXICO, 02 DE MAYO DE 2017**

## **COMITÉ TUTORIAL**

---

### **CO-TUTOR**

Dr. José Antonio Herrera Barragán  
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DCBS, DPAA,  
Profesor investigador Titular C

### **CO-TUTOR**

Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez  
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DCBS, DPAA,  
Profesor investigador Titular C

### **ASESOR**

M. en C. Ricardo Ruíz Sánchez  
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, DCBS, DPAA,  
Profesor investigador Titular C

La Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, pertenece al padrón de posgrados de excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

El consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) otorgó una beca a la estudiante del posgrado de la Maestría en Ciencias Agropecuarias Rocío Azhzil López Zárate con número (CVU): 687945

Con la aprobación de fortalecimiento de los cuerpos académicos “Fisiología de la Reproducción Animal”, este trabajo se desarrolló como parte de las líneas de investigación del proyecto *“Expresión de Genes Relacionados con la Integridad de los Folículos y Descripción de Algunas Características Espermáticas Inherentes a su Capacidad Fertilizante”* registrado en la DCBS de la UAM-X, clave UAM-X-CA-107.

Jurado designado por la comisión académica de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana para la tesis titulada: **“EFECTO DE LA LUZ Y SUPLEMENTACIÓN CON dl-alfa tocoferil EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y CALIDAD AL NACIMIENTO DEL POLLITO”** que presentó: MVZ. Rocio Azhzil López Zárate

**JURADO DEL EXAMEN:**

**Presidente.**

DR. JOSÉ ANTONIO QUINTANA LÓPEZ

**Secretario.**

M. en C. RICARDO RUÍZ SÁNCHEZ

**Vocal.**

DR. JESÚS EDUARDO MORALES BARRERA

## AGRADECIMIENTOS

---

Por la donación de los huevos fértiles de gallina para realizar los estudios  
experimentales

***“Grupo Pecuario San Antonio”***

Yecapixtla, Morelos

**Responsable: Dr. José Antonio Moyao**

Por la atención brindada durante el desarrollo del trabajo y por formar parte del  
jurado para la presentación del examen de grado

**Dr. José Antonio Quintana López**

Universidad Nacional Autónoma de México

Dpto. de Medicina y Zootecnia de Aves

## AGRADECIMIENTOS

---

Quiero dedicar este trabajo a mis padres y hermano María Luva Zárate Quezada, Juan Manuel López Mijares y Juan Carlos López Zárate, quienes han sido los pilares en mi vida y me han motivado a continuar con mi crecimiento profesional y personal, a pesar del panorama incierto. A mi novio, Jesús Reyes Ramírez por siempre creer en mí y brindarme su apoyo incondicional y su cariño durante todo este tiempo. Al MVZ. Renán Medina Domenzaín, quién durante mi carrera profesional fue mi mentor y me inspiró y enseñó a amar la avicultura. A la Dra. María Guadalupe Micaela Prado Flores, quien fue mi profesora en la maestría y me brindó no sólo su apoyo, sino su hermosa amistad y me motivó para seguir adelante.

Hago un especial agradecimiento al Dr. José Antonio Herrera Barragán, Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez, M. en C. Ricardo Ruíz Sánchez, por la gran oportunidad de concluir mis estudios de posgrado y por su valiosa amistad. Gracias por guiarme y apoyarme en este largo y difícil camino y por todas sus enseñanzas, profesionales como personales. A mis docentes de la maestría que me dejaron preceptos muy valiosos tanto para la vida académica como para entender la esencia de la vida. Asimismo, al Dr. Juan Manuel Corona, quien me brindó la oportunidad de asistir al BECY en Alemania. También agradezco toda la ayuda brindada de mis compañeros de trabajo, “la hermandad de la maestría” MVZ. Ricardo Camarillo Flores, MVZ. Ana Karen Vargas Ibarra y la Biól. Samantha Cárcoba Pérez.

Agradezco también a los alumnos de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia y de la Maestría en Ciencias Agropecuarias por apoyarme en mi proyecto y compartir conmigo un poco de su valioso tiempo.

## RESUMEN

La luz verde monocromática, está asociada con la aceleración del desarrollo embrionario y el nacimiento pronto de los pollitos mientras que, la dl-alfa-tocoferil tiene efectos en el momento de la eclosión del pollito e incremento de peso al nacimiento. El presente estudio se realizó con la finalidad de suplementar dl-alfa tocoferil en combinación con luz verde monocromática, para conocer el efecto que tiene sobre el desarrollo embrionario del pollito y la calidad del mismo al nacimiento. Se trabajó con 80 embriones de la línea genética Bovans White, con los cuales se formaron 4 tratamientos: 1) Control (Luz natural), 2) Luz natural + dl-alfa tocoferil, 3) Luz verde y 4) Luz verde + dl-alfa tocoferil. La luz verde se colocó del día 7 de desarrollo embrionario al día 19. Para la alimentación *in ovo*, se inyectó en el saco vitelino, dl-alfa tocoferil (Eternal®) el día 14 de incubación. Al nacer los pollitos se evaluaron las siguientes características: peso; longitud del pollito y de los tarsos; color y calidad de la piel; calidad de las plumas: forma del cráneo, pico, quilla, escápula, alas y tarsos; calidad de ojos; cicatrización de ombligo y; viveza del pollito. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple entre medias con una *T de Student* ( $p < 0.05$ ) para las variables de peso, longitud del pollito y de los tarsos. Para las variables de respuesta de calidad del pollito al nacimiento se realizó un análisis de correspondencias múltiples. En los resultados obtenidos, se observó que el efecto de la luz verde y su combinación con dl-alfa tocoferil mejoraron la calidad de los pollitos, incrementando la calidad de los pollitos nacidos. Los resultados pueden ser aplicados a investigaciones que involucren la generación de embriones de pollo como modelos experimentales con estándares de excelente calidad y en embriones de importancia económica así como para la conservación de especies.

**Palabras clave:** Incubación, embrión, calidad, dl-alfa tocoferil, luz, eclosión.

## **ABSTRACT**

The monochromatic green light, is associated with the acceleration of embryonic development and the early birth of chicks, whereas dl-alpha tocopheryl has effects at the time of hatching of the chick and increased birth weight. The present study was carried out with the aim of supplementing dl-alpha tocopheryl in combination with a monochromatic green light, to know the effect of embryo development on the chick and its quality at birth. We used 80 embryos from the Bovans White genetic line, with which 4 treatments were formed: 1) Control (natural light), 2) Natural light + dl-alpha tocopheryl, 3) Green light and 4) Green light + dl-alpha tocopheryl. The green light was placed from day 7 of embryonic development to day 19. For *in ovo* feed, dl-alpha tocopheryl (Eternal®) was injected into the yolk sac on day 14 of incubation. At birth, the following characteristics were evaluated: weight; length of chick and tarsi; color and quality of the skin; quality of the feathers, skull, beak, keel, scapula, wings and tarsi shape; eye quality; scarring of navel and; vividness of the chick. An analysis of variance (ANOVA) and a multiple comparison test between means with a Student's T ( $p < 0.05$ ) were performed for the variables of weight, chick length and tarsi. For the quality response variables of the chick at birth, a multiple correspondence analysis was performed. In the results obtained, it was observed that the effect of green light and its combination with dl-alpha tocopheryl improved the quality of the chicks, increasing the quality of the chicks born. The results can be applied to research involving the generation of chicken embryos as experimental models with high quality standards and embryos of economic importance as well as for the conservation of species.

**Key words:** Incubation, embryo, quality, dl-alpha tocopheryl, light, hatching.

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	10
<b>II. MARCO REFERENCIA</b> .....	13
1. INDUSTRIA AVÍCOLA MUNDIAL .....	13
2. INDUSTRIA AVÍCOLA .....	15
3. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AVÍCOLA.....	17
4. ALTERNATIVAS DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA.....	18
<b>III. MARCO TEÓRICO</b> .....	24
1. APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA .....	24
2. FORMACIÓN DEL HUEVO.....	26
3. ESTRUCTURAS Y COMPOSICIÓN DEL HUEVO .....	26
4. FERTILIZACIÓN .....	28
5. ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.....	30
5. NUTRICIÓN DEL EMBRIÓN.....	39
6. INCUBACIÓN ARTIFICIAL DEL HUEVO FÉRTIL .....	42
7. ALTERACIONES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO .....	42
8. PARÁMETROS DEL POLLITO RECIÉN NACIDO .....	48
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	52
<b>V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	53
<b>VI. HIPÓTESIS</b> .....	53
<b>VII. OBJETIVOS</b> .....	53
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	54
1. Protocolo de trabajo .....	54
2. Condiciones de las variables a estudiar .....	54
4. Análisis estadístico.....	61
<b>VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	62
1. Peso, longitud del pollito y longitud de tarsos .....	62
2. Calidad del pollito al nacimiento .....	63
<b>IX. DISCUSIÓN</b> .....	68
1. Peso, longitud del pollito y longitud de los tarsos .....	68
2. Calidad del pollito al nacimiento .....	69
<b>X. CONCLUSIONES</b> .....	71
<b>XI. LITERATURA CITADA</b> .....	72

## I. INTRODUCCIÓN

La avicultura es una de las actividades económicas más importantes a nivel mundial (Fontana et al., 2015) y de rápido crecimiento que tiene como finalidad la producción de huevo fértil debido a un inmenso interés en la nutrición animal, investigación y el mejoramiento sanitario, generando impactos positivos a nivel económico, ambiental y social (Gangadoo et al., 2016).

A nivel mundial y nacional, existen granjas dedicadas a obtener huevo fértil (granjas de reproductoras). Sin embargo, la importancia de producción de embriones de pollo de alta calidad, no sólo se relaciona con el aspecto alimentario, sino que también concierne al aspecto de investigación para el desarrollo de nuevas tecnologías (Kalinka y Tomancak, 2012). Esto se debe a que los embriones de gallina como modelo de investigación, tienen un valor agregado (Hiller et al., 2004) comparado con modelos mamíferos, ya que son accesibles para la manipulación quirúrgica (Goodall et al., 2009) y experimentación en cuanto a temas de medicina e investigación farmacéutica, en humanos (Martínez-Madrid et al., 2009) y animales se refiere (Lee et al., 2004).

En los últimos 20 años, se han desarrollado nuevas técnicas biotecnológicas, las cuales destacan por detener la pérdida de hábitats, la sobreexplotación de los recursos, la aminoración del cambio climático y la eliminación de especies invasoras (Corlett, 2016). Es por ello que la producción de embriones de pollos de calidad como material biológico es de gran interés por tres situaciones importantes: 1) el uso de modelos por los aspectos éticos al momento de hacer vivisecciones (Giannaccini et al., 2014); 2) por la fácil manipulación del embrión *in ovo* (Palmquist-Gomes et al., 2016) y; 3) por la gran numerosidad de investigaciones en el campo biológico que precisan de características especiales ya sea por la edad del embrión.

Sin embargo, el desarrollo embrionario del pollito, implica un gran consumo de energía y nutrientes contenidas en la yema que son pilares durante el picaje y el nacimiento del pollito. La dl-alfa tocoferil es uno de los principales antioxidantes no enzimáticos membranales presentes en la yema (Arrieta et al., 1999). En el pollo, el

hígado es el encargado de almacenar y regular los niveles de dl-alfa tocoferil (Hossain et al., 1998) y es el principal sitio de síntesis de agentes antioxidantes como el glutatión. No obstante, durante el proceso de eclosión del pollito e inicio de la respiración pulmonar, se demanda una gran cantidad de nutrientes que sirven como combustible, y es muy común que no tengan acceso al alimento sólido por al menos 24-72 horas post-eclosión. Por lo cual se han implementado técnicas que permitan la administración de nutrientes exógenos en el saco amniótico, una de ellas es la alimentación *in ovo*, una herramienta útil que permite evitar las pérdidas de peso durante el desarrollo embrionario, mejorar la calidad del pollito al nacimiento, incrementar el porcentaje de viabilidad, aumentar el peso de los pollitos al nacer y después de nacer (Moghaddam et al., 2013).

Asimismo, el desarrollo embrionario de las aves, en comparación de los mamíferos, ocurre fuera del cuerpo de la madre (oviparidad) (Liu et al., 2015), reemplazando la incubación natural por la artificial (Molenaar et al., 2010) y es posible la modificación de las condiciones ambientales y la adición de variables experimentales, tales como la luz, que en estudios previos se ha observado tiene un gran efecto en la formación de órganos de los embriones de pollos (Yahav et al., 2004; Liu et al., 2015), pues se sabe que el rol de la luz monocromática o por sus siglas en inglés LED (*light-emitting diode*: diodo emisor de luz) en las actividades biológicas está asociado con la aceleración del desarrollo embrionario (Rozemboim et al., 2013) y el nacimiento acelerado de las aves (Archer y Mench, 2014). Por ello, la exposición de los embriones a luz monocromática, específicamente luz verde, estimula la fotorrecepción retinal que en conjunto con la activación del sistema endocrino existe una estimulación a nivel muscular que provoca una mayor cantidad de masa muscular y por ende, un acelerado crecimiento del pollito (Rozemboim et al., 2013). Este proceso tiene mayor eficacia durante los días críticos de incubación (días 3, 7, 14 y 19) (Öskan et al., 2012; Moraes et al., 2003) ya que provoca cambios perinatales epigenéticos en las funciones del cuerpo (impronta de las funciones del cuerpo) (Nassar et al., 2015).

Dicho esto, es posible mejorar el desarrollo de los embriones que al final serán pollitos en excelentes condiciones. Estos parámetros pueden ser medidos y están referidos a los aspectos físicos, inmunológicos, fisiológicos y locomotores positivos desarrollados durante el crecimiento del embrión hasta el nacimiento del pollito. Al nacer los pollitos se realiza una evaluación de la calidad del pollito por medio de una serie de parámetros subjetivos, a los cuales se les designa un valor que sumen el 100% (Quintana, 2016) y de esta manera poder clasificar a las aves de primera, segunda o tercera calidad, que se traduce en un menor índice de mortalidad y mayor productividad tanto en ganancia de peso como en crecimiento así como la expresión correcta de la genética de los animales (Tona et al., 2003).

Por todo lo anterior, el presente estudio busca la experimentación de la suplementación de dl-alfa tocoferil en combinación con la luz verde monocromática para conocer el efecto que tienen sobre el desarrollo embrionario del pollito y la calidad del mismo al nacimiento.

## II. MARCO REFERENCIA

### 1. INDUSTRIA AVÍCOLA MUNDIAL

La avicultura es una de las actividades económicas más importantes a nivel mundial (Fontana et al., 2015) y de rápido crecimiento que tiene como finalidad la producción de huevo fértil, huevo para plato y carne (Chica y Dávila, 2003). Asimismo, tiene un inmenso interés en la nutrición animal, la investigación y el desarrollo enfocado en el mejoramiento sanitario, resistencia a enfermedades y productividad, generando impactos positivos a nivel económico, ambiental y social (Gangadoo et al., 2016).

A nivel mundial, los principales países productores de huevo para plato y carne son China, Estados Unidos, India, Japón, Rusia, México, Brasil, Unión Europea e India (Figura 1 y Figura 2) (UNA, 2016).

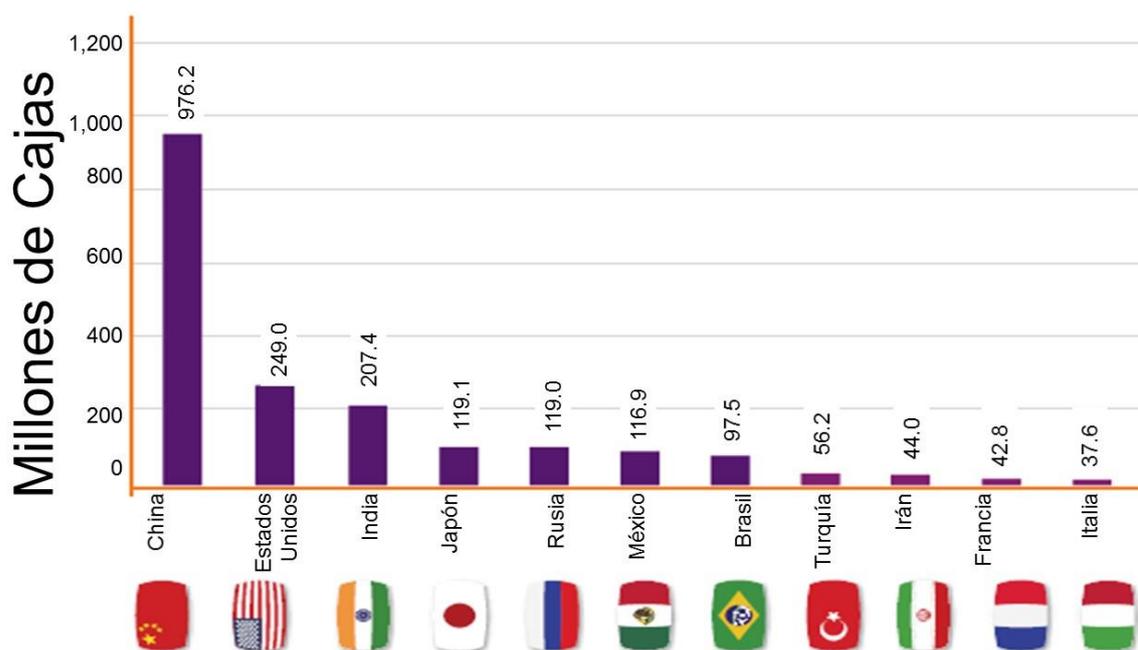
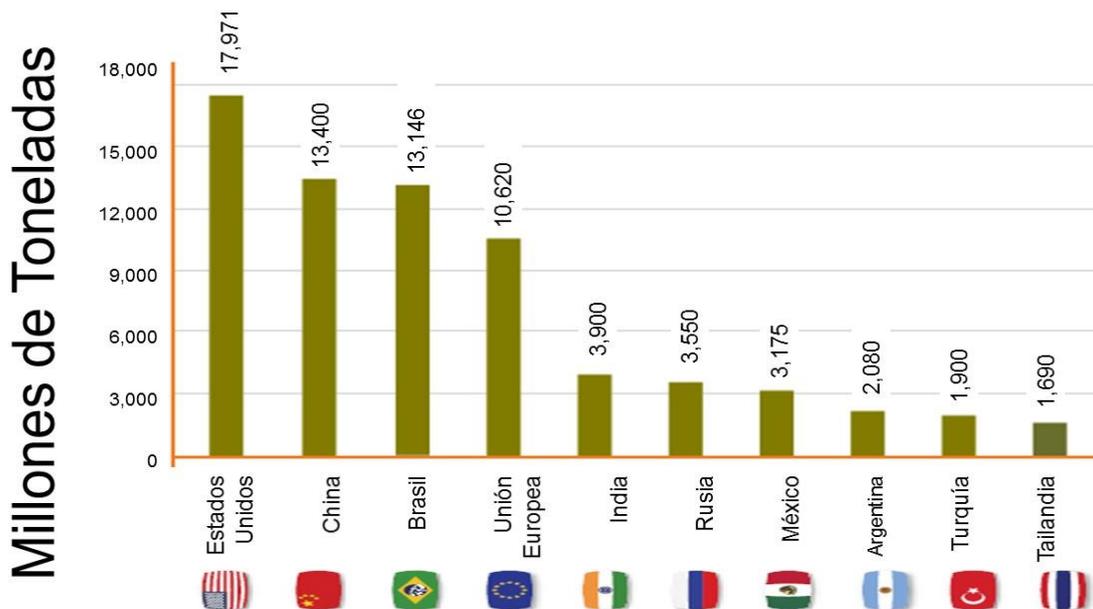


Figura 1. A nivel mundial, los principales productores de huevo para plato son China, con una cantidad de 976.2 millones, Estados Unidos con 249 millones e India con 207.4 millones de cajas. México se encuentra en el sexto lugar con una producción de 116.9 millones. Fuente: UNA (2016).



**Figura 2. A nivel mundial, los principales productores de toneladas de pollo son Estados Unidos, con una cantidad de 17,971 miles de toneladas, China con 13,400 miles de toneladas y Brasil con 13,146 miles de toneladas. México se encuentra en el séptimo lugar con una producción de 3,175 miles de toneladas. Fuente: UNA (2016).**

La producción de huevo en América (incluyendo huevo fértil) ha aumentado 2.2% por año desde el año 2000, manteniendo 20% del total mundial, presenta una disminución en el periodo de 2009 y 2012 por los brotes de influenza aviar de la cepa H7N3 provocando la pérdida de millones de aves (incluyendo reproductoras y aves de producción de huevo para plato). Sin embargo, la producción se recuperó a partir del año 2013 y para el año 2016 la producción se elevó y alcanzó 71.5 millones de toneladas, que a nivel mundial representa alrededor del 5% de toda a producción de huevo (USDA, 2015; FAO, 2016b). De acuerdo con la FAO (2016b), se pronostica para el 2030 un crecimiento promedio anual de 1.5%, siendo un total de 86.8 millones de toneladas de huevo por producción global.

México participa con el 63.6% de la producción avícola, 34.7% aportada por el pollo de engorda, 28.8% por la producción de huevo y 0.1% por la de pavo (Figura 3) (UNA, 2016).

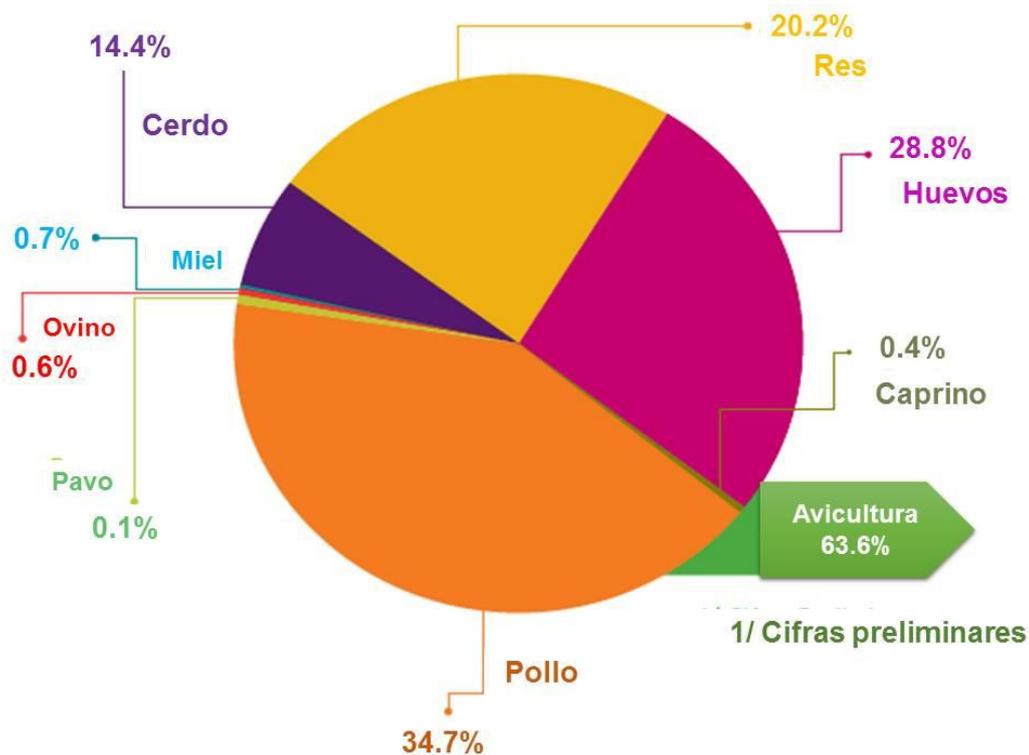


Figura 3. Se describe la producción pecuaria en México, siendo el principal el sector de avicultura con una producción de 63.6%, siendo la producción de pollo el área que más contribuye (34.7%), huevo (28.8%) y pavo (0.1). Fuente: UNA (2016).

## 2. INDUSTRIA AVÍCOLA

Una granja avícola es un establecimiento agropecuario para la cría de aves de corral, que tiene como propósito la obtención de huevo y carne (Graeub et al., 2016). Las aves de corral son criadas en grandes cantidades, siendo la cría de pollos y gallinas la de mayor volumen. A nivel mundial y nacional, existen granjas dedicadas a obtener huevo fértil (granjas de reproductoras) y huevo para plato (granjas de ponedoras) así como para obtener carne (granjas de engorda) (Revidatti et al., 2003).

### 2.1 Granjas de reproductoras

Las granjas de reproductoras, tienen como finalidad la obtención de huevos fértiles por medio del apareamiento entre gallos y gallinas. Estas granjas crían gallinas de líneas avícolas con excelentes estándares genéticos (Blasco y Toro, 2014), de tal

manera que se puedan obtener, embriones de calidad para investigación o pollitos de calidad para su cría y/o venta (Gilani et al., 2012; Bennett et al., 2014).

Estas granjas utilizan dos tipos de gallinas ponedoras, las de líneas genéticas ligeras y las de líneas genéticas pesadas. En ambas, las parvadas de aves deben cumplir con características tales como fertilidad, adaptación al proceso de reproducción (capacidad de producir un huevo cada 24 horas) (Clark y Harding, 2006), que los huevos obtenidos sean de calidad y cumplan con un peso entre 50-60 g para su incubabilidad y finalmente, calidad de pollito al nacimiento (Wondmeneh et al., 2016).

Una serie de organizaciones gubernamentales, no gubernamentales y de capacitación, han desarrollado programas de cría de aves de corral para producir pollos locales en los países en desarrollo (Heidari et al., 2011). Las franquicias avícolas comerciales de mayor escala en los países en desarrollo suelen importar huevos fértiles de parvadas comerciales de ponedoras o pollos de engorde. Estos huevos se colocan en grandes incubadoras y los pollitos son vendidos a los pueblos o se utilizan para producir carne o huevo (FAO, 2009a).

## **2.2 Granjas de ponedoras**

En estas granjas, se encuentran las hijas de las reproductoras de líneas ligeras; la finalidad de estas aves es producir huevo entero o huevo para plato (SAGARPA, 2009). Generalmente, el ciclo de producción de huevo inicia alrededor de las 16-18 sem en aves ligeras y a las 18-20 sem en aves semi-pesadas. Estas aves pueden ser criadas ya sea en jaula o en piso (Chica y Dávila, 2003).

La parvada nacional está formada por 152 millones de gallinas ponedoras, siendo las líneas genéticas que mayormente se utilizan, la Bovans White (37%), la Hy Line (34%), Dekalb Brown (10%), Lohmann (8%), Hy sex (7%) y Shaver (4%) . El 96% de la producción es huevo blanco mientras que el 4% es de huevo rojo (UNA, 2016).

## **2.3 Granjas de pollo de engorda**

En estas granjas, se encuentran los hijos de las reproductoras de líneas pesadas; la finalidad de estas aves es producir carne. Su ciclo de producción dura alrededor

de 6 sem. Durante los últimos años el mejoramiento genético del pollo de engorda, ha logrado producir un ave muy eficiente como transformadora de alimento en carne, teniendo mayor desarrollo muscular en las partes de alto valor comercial como la pechuga, pierna y muslo, así como un incremento en el peso de los mismos (Chica y Dávila, 2003). Las principales líneas genéticas utilizadas para este sector son la Cobb y la Ross (SAGARPA, 2009).

### **3. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AVÍCOLA**

La avicultura en México, se divide principalmente en dos grandes facetas: producción tecnificada y no tecnificada (Roldán et al., 2006).

#### **3.1 Tecnificada**

La avicultura altamente tecnificada o industrial, se refiere a un elevado número de aportes, que resultan en un elevado rendimiento (carne o huevo) por animal, y es comúnmente asociada con un gran número de animales concentrados en un área de tamaño reducido (Van Boeckel et al., 2012). En este sector, es posible mejorar las líneas genéticas, alimentación y labor de mecanización (Otte et al., 2007), así como prevenir enfermedades por medio de la bioseguridad (Ssematimba et al., 2013).

En México, existen diferentes tipos de granjas tecnificadas, como las de crianza en piso, en jaula, con crianza artificial y de pollos de carne (Quintana, 2006).

#### **Crianza en piso**

Este tipo de crianza consiste en instalar a las aves sobre el piso, el cual se encuentra recubierto de yacija o cama (Quintana, 2006). Es económico ya que ahora mano de obra, sin embargo tiene mayor índice de mortalidad debido al amontonamiento (Valdivié y Dieppa, 2002) y por enfermedades transmisibles por heces, como parásitos (Coronel, 2014).

#### **Crianza en jaula**

Este método consiste en instalar a las aves en forma colectiva, en jaulas que pueden ser colocadas ya sea en un solo plano, de manera escalonada o en batería. Las

ventajas de este sistema son el aprovechamiento de espacio, no existe contagio de enfermedades, no necesitan cama, no hay competencia por alimento y es de fácil manejo para la profilaxis de las aves (Quintana, 2006; Coronel, 2014).

### **Crianza artificial**

En este sistema, se requiere de máquinas criadoras que protejan a los pollitos del frío. Estas máquinas utilizan combustibles como gas, petróleo, rayos infrarrojos o luz. Asimismo, para poder mantener el calor en las aves, es necesario el uso de redondeles o rodetes los cuales pueden ser de cartón, lámina galvanizada, plástico, entre otros. Las desventajas de este sistema, son el incremento de costos por uso de combustibles y materiales para la conservación del calor, sin mencionar que la crianza es similar a la de piso y el contagio de enfermedades incrementa (Quintana, 2006; Cui et al., 2009).

### **Crianza de pollos de carne**

La crianza de estas aves puede llevarse a cabo de las tres maneras anteriormente mencionadas (piso, jaula o su combinación). Para este sistema, se separan las aves por sexo, debido a la ganancia de peso y la ración de alimento (Berti y Chacón, 1982; Quintana, 2006)

### **3.2 No tecnificada**

La avicultura no tecnificada o tradicional, es muy popular en México y se caracteriza por ser una actividad complementaria a otras actividades agropecuarias que cuenta con inversiones reducidas en infraestructura básica, aves de crecimiento lento, algunas de ellas con bajos rendimientos de carne o huevo, con alojamientos pequeños, ventilación natural y sin mecanización, así como crianza simultánea de varios lotes de aves de diferentes edades, equipos de alimentación manuales y poco o escaso control de los parámetros productivos, poca higiene y control sanitario (Roldán et al., 2006).

## **4. ALTERNATIVAS DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA**

La importancia de producción de embriones de pollo de alta calidad, no se sólo se relaciona con el aspecto alimentario a nivel mundial y nacional, sino que también

concierno al aspecto de investigación biológica, ya sea como modelo experimental para el desarrollo de nuevas tecnologías, como la genómica y para la preservación de especies en cautiverio (Kalinka y Tomancak, 2012).

#### **4.1 Embriones de calidad para investigación**

Los embriones de gallina como modelo de investigación, tienen un valor agregado, debido al reciente descubrimiento del centro de secuenciación intramural (NIH) en el pollo, esclareciendo dudas sobre la evolución de los organismos, mamíferos y peces, convirtiéndose en una fuente única de información (Hiller et al., 2004). Por ello, los embriones de pollos son un modelo fácilmente accesible para la manipulación quirúrgica (Goodall et al., 2009), de experimentación en cuanto a temas de medicina e investigación farmacéutica, en humanos (Martínez-Madrid et al., 2009) y en animales (Lee et al., 2004).

Son un modelo animal bien conocido, desde los tiempos de Aristóteles hasta la era molecular (Haller et al., 2015). El gran interés en los embriones de pollito como modelo biológico y farmacéutico, se relaciona con su fácil uso y bajo costo, comparado con modelos mamíferos, y a la autorización en materia de bienestar animal, para la experimentación con este modelo (Vargas et al., 2007).

La producción de embriones de pollos de calidad como material biológico, es por tanto, de gran interés por tres situaciones importantes: 1) el uso de modelos de mamíferos no es bien visto por los aspectos éticos y por la gran labor que se requiere al momento de hacer vivisecciones (Giannaccini et al., 2014); 2) por la fácil manipulación del embrión *in ovo* sin afectar la viabilidad de los organismos (Palmquist-Gomes et al., 2016) y; 3) por la gran cantidad de investigaciones en el campo biológico que precisan de características especiales ya sea por la edad del embrión o por el desarrollo de ciertos órganos.

Algunos ejemplos sobre el uso de estos embriones para investigación, se tiene el de Chiba et al. (2002) quienes utilizaron los embriones para conocer el desarrollo de los ritmos respiratorios durante toda la etapa de incubación con ayuda de un micrófono adherido al cascarón y poder así, establecer un parámetro concreto. Lee

et al. (2004) hicieron un estudio con el cual querían comprobar la capacidad del tallo cerebral embrionario en los humanos al inyectarles células de la cavidad amniótica para evitar las anomalías neurológicas, por lo cual, utilizaron embriones de pollo de 18 y 19 d de desarrollo fetal para comprobar la teoría y llevarlo a la práctica en humanos. Asimismo, Bento et al. (2011), investigaron los genes críticos presentes durante el desarrollo del sistema circulatorio y sus mecanismos de acción en los humanos; para ello utilizaron embriones desde los 3 d de desarrollo embrionario, los cuales tienen semejanzas con los embriones humanos, y continuaron investigando hasta los días 19 y 20 para la adecuada descripción fisiológica del corazón del pollo. En estudios más recientes, Ribatti (2016), ha utilizado células de la membrana corioalantoidea (CAM) para probar muestras farmacológicas en un corto tiempo sobre la angiogénesis y tumores en crecimiento; asimismo, poder realizar trasplantes de diferentes tipos de tejidos de diversas especies. De igual manera, Mendizabal et al. (2016), generaron metástasis de carcinoma mamario en embriones de pollos, con la finalidad de conocer hasta dónde abarca la extensión de las células cancerígenas en los órganos y, contrarrestar el crecimiento de estas células utilizando agentes vitamínicos en combinación con agentes neoplásicos para observar la potencialidad de la interacción de los mismos.

#### **4.2 Granjas farmacéuticas**

El descubrimiento y desarrollo de nuevas biotecnologías animales (Lassen et al., 2006) forman parte de un continuo liderazgo que permita la industrialización tecnológica de productos biotecnológicos agrícolas y médicos, como la secuenciación de genomas e identificación de genes (Bulfield, 2000), los cuales han permitido mejoras significativas en el incremento de la seguridad alimentaria, salud humana y animal, y la protección ambiental (Kochhar y Evans, 2007). El desarrollo de estas biotecnologías de alto rendimiento para el descubrimiento, síntesis y proyección de drogas, así como los avances en genómicas y proteómicas, han resultado en una gran cantidad de nuevos estudios experimentales, para los cuales se debe considerar su biocompatibilidad y biodegradación en organismos biológicos

(Vargas et al., 2007), las cuales han requerido de la creación de granjas farmacéuticas (Kues y Niemann, 2004).

Los animales contribuyen notablemente para el desarrollo (Faber et al., 2003) y entendimiento de estas áreas. Por ejemplo, como un establecimiento de la anatomía y fisiología del páncreas, Wild (2001); Cowap (1985), utilizaron embriones de pollos para realizar laparotomías que le permitieran conocer la fisiología de las glándulas endocrinas así como su pluritencialidad de diferenciación en el mismo. Más adelante, Cynober et al. (1985), compararon la acción de la insulina y las Inmunoglobulinas-1/Sm-C (IGF-I/Sm-C) sobre la elevación de la 2-deoxiglucosa (2DOG) y la  $\alpha$ -aminoisobutirato (AIB) en los tejidos celulares de embriones de pollos, para examinar si era posible que la insulina actuara a través de la unión de los receptores de la IGF-I/Sm-C. Agca, (2012), realizó una revisión sobre la importancia de la generación de bancos genómicos así como la criopreservación de gametos, debido al uso progresivo que se le ha dado en el área de biomedicina, salud animal e investigación, ya que proveen información genética para futuros proyectos de investigación, además de que son relativamente más económicos y sustentables, en cuanto a la conservación de especies se refiere. Otro ejemplo de importancia, es la crianza de animales transgénicos, ya que estos ofrecen una nueva herramienta para la elaboración de productos comestibles de mejor calidad, en cuanto a nutrientes y sabor se refiere (Miller, 2007; Rexroad et al., 2007) al utilizar la secuencia de ADN, meganucleasas, transposones, células somáticas nucleares, entre otros, para también generar resistencia a enfermedades y por ende, reducir el impacto ambiental (Kues y Niemann, 2011). Además de mencionar que la crianza de estos animales en granjas farmacéuticas permite el desarrollo y generación de virus vivos (Monath, 2013), obtención de tejidos, cultivos celulares, observación de mecanismos regulatorios, reproductivos y biológicos que toman lugar durante la embriogénesis (Palmquist-Gomes et al., 2016).

### **4.3 Conservación de embriones**

La conservación de la biodiversidad y la biotecnología han sido polos opuestos y con muy poca interacción. Sin embargo, en los últimos 20 años, este paradigma ha

cambiado en respuesta a las nuevas técnicas biotecnológicas en desarrollo, las cuales destacan por detener la pérdida de hábitats, la sobreexplotación de los recursos, la aminoración del cambio climático y la eliminación de especies invasivas (Corlett, 2016).

Para ello, se han revelado nuevos conocimientos en el área de genómica y se han implementado más herramientas para las áreas moleculares con la promesa de la manipulación genética en las especies silvestres y de importancia económica. Es por ello que las tecnologías reproductivas son consideradas herramientas de gran utilidad para la conservación de especies amenazadas, debido al impacto que ha generado la caza, la destrucción de hábitats y enfermedades (Vilela et al., 2016). Existen dos estrategias propuestas para la conservación de especies: 1) Conservación *in situ* que consiste en la crianza de animales, mayormente enfocada a producción y; 2) Conservación *ex situ*, que busca la seguridad de animales vivos de zoológicos, parques de vida silvestre, granjas experimentales, entre otros. Precisamente esta última, utiliza como herramienta la conservación *in vitro* para preservar material genético de forma haploide (semen y ovocitos) y secuencias de ADN (bancos genómicos) y diploide (embriones) (Berti y Chacón, 1982)

#### **4.3.1 Bancos genómicos**

Los bancos genómicos, son una colección organizada de almacenamiento y uso de biomateriales, que incluyen germoplasmas (espermatozoides y óvulos) y tiene como finalidad preservar la diversidad genética de muchas especies (Harnal et al., 2002).

Asimismo, los bancos genéticos pueden servir como una fuente primaria de material para investigación, por las muestras de ADN (McCormack et al., 2012) que se tienen almacenadas y también utilizarse en casos de emergencia, en aquellas que ya estén en riesgo de extinción (Mara et al., 2013)

#### **4.3.2 Criopreservación de embriones**

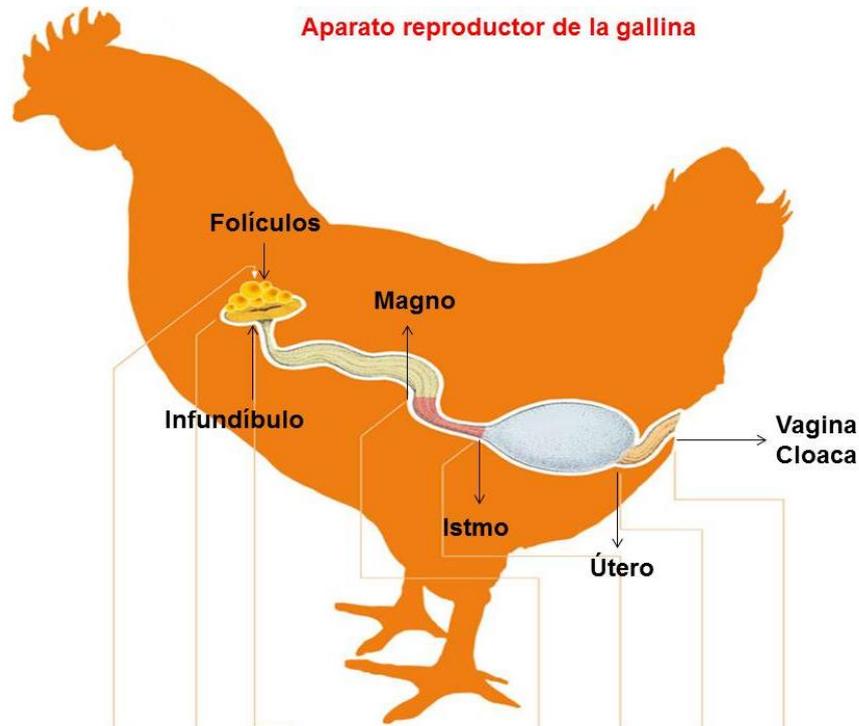
Existen estudios que mencionan la criopreservación de embriones de especies como rumiantes, equinos y porcinos (tiempo menor a 5 años), que han sido reconstruidos y utilizados para la conservación de líneas genéticas o del genoma

entero, en comparación con el genoma mitocondrial del espermatozoide en el que se pierde una cierta proporción (Mara et al., 2013). Además, los embriones brindan características particularmente únicas difíciles de establecer solo con el uso del semen (Rall, 1992). Sin embargo, una de las grandes desventajas de la criopreservación de estos embriones es su precio elevado, debido a que su obtención requiere de más recursos (Kalinka y Tomancak, 2012). Por ello, se desea la obtención de embriones de pollo de excelente calidad con un contenido genético valioso, que representaría menores costos al momento de la criopreservación en comparación con los de las especies señaladas (Giannaccini et al., 2014).

### III. MARCO TEÓRICO

#### 1. APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA

El aparato reproductor de la gallina mide entre 60-70 cm de largo y está compuesto del ovario (contiene folículos), infundíbulo, magnum, istmo, útero y vagina (Quintana, 2006) (Figura 4).



**Figura 4. Segmentos que conforman el tracto reproductor de la gallina. Fuente: INA (2009).**

Diez días antes de la ovulación, se produce la fase de crecimiento rápido de la yema dentro del folículo ovárico denominada vitelogénesis (Torre-Marina, 2012). Cuando el folículo alcanza la madurez, la interacción de las hormonas hipofisarias y las hormonas del propio folículo provocan la liberación de la yema, y esta es captada por el oviducto, dando inicio al proceso de formación del huevo (Johnson, 2015).

## **Infundíbulo**

Entrada del oviducto, tiene forma de embudo y captura al óvulo, aquí se forman las capas más externas de la membrana vitelina en un tiempo aproximado de 15 a 30 minutos. En este lugar, es dónde se puede fecundar el huevo (Torre-Marina, 2012).

## **Magnum**

Esta es la región secretora del albumen y está constituido por 40 proteínas, entre las cuales se incluyen la avidina, ovomucina, ovoalbúmina y lisozima. En esta región también se adicionan agua, carbohidratos y algunos minerales, particularmente sodio, magnesio y calcio. El huevo permanece aquí durante 3 h y 30 minutos (INA, 2009). En la yema, se sintetizan lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que constituyen la mayoría de la materia seca y están suspendidas dentro de un sistema acuoso de la yema. Asimismo, existen esferas y gránulos en la yema llamados fosvitinas y lipovitelininas (Jung et al., 2012).

## **Istmo**

El huevo permanece una hora y 15 minutos; se secretan grandes cantidades de gluconato cálcico, sustancia filamentosa que constituye la membrana testácea, compuesta de dos fárfaras que cubren la clara y que en el polo mayor del huevo se separan del cascarón, para formar la cámara de aire (Jung et al., 2012).

## **Útero**

Es un conducto glandular donde se realiza la secreción de albúmina, impregnada de partículas calizas que envuelven al huevo y constituyen al cascarón. En este segmento del oviducto se regula el contenido salino y acuoso del huevo y se pigmenta el cascarón (Mortola, 2009) este proceso dura alrededor de 18-22 horas (Torre-Marina, 2012).

## **Vagina**

Una vez formado el huevo se producirá la ovoposición del huevo a través de la vagina, que va hasta la cloaca. Antes de ser expulsado, el huevo es recubierto por

una delgada capa de glucoproteínas llamada cutícula que sella los poros y logra reducir la pérdida de humedad y la contaminación bacteriana. El tiempo total de la formación del huevo es de 25 a 27 horas (Bellairs y Osmond, 2014c).

## **2. FORMACIÓN DEL HUEVO**

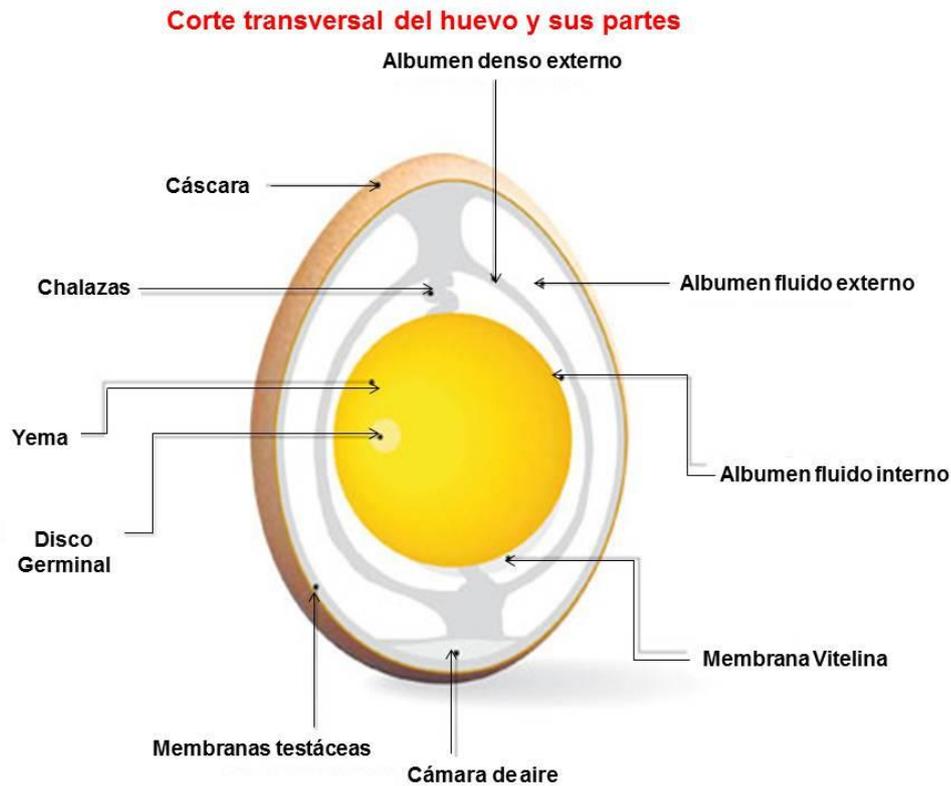
El huevo es el producto de la ovulación de la gallina (*Gallus domesticus*), es de figura ovoide y es obtenido por medio de la ovoposición, y está constituido por cascarón, membranas albugíneas, cámara de aire, chalazas y vitelo (Torre-Marina, 2012).

Una vez alcanzada la madurez sexual de la gallina (entre las 18 y 20 sem de edad) comienza la producción de huevo o postura. La gallina forma un huevo entre 24-28 h, durante las cuales todos los componentes necesarios son sintetizados en particular proteínas y lípidos específicos para la formación de las membranas biológicas (Torre-Marina, 2012).

El ciclo productivo de las gallinas, alcanza su pico alrededor de las 25-27 semanas de edad y tiene una duración de 52 semanas. En el caso de las aves pelechadas, el ciclo productivo tiene su pico a las 7-8 semanas y tiene una duración de 38 semanas (Quintana, 2006).

## **3. ESTRUCTURAS Y COMPOSICIÓN DEL HUEVO**

El peso medio de un huevo es de 60g. La estructura del huevo está diseñada para mantener al embrión y contiene nutrientes que permitan la viabilidad del pollito. Por esta razón, el huevo se encuentra protegido de la contaminación exterior por la barrera física que le proporcionan el cascarón y las membranas y la barrera química que le proporcionan los componentes antibacterianos presentes en su contenido. El cascarón, la clara y el albumen, están separadas entre sí por medio de membranas que mantienen su integridad (INA, 2009) (Figura 5).



**Figura 5. Estructuras del huevo. Fuente: INA (2009)**

### **Cascarón ó cáscara**

Es la cubierta exterior del huevo, la cual mantiene la integridad física y actúa como barrera bacteriológica. Está constituida por una matriz cálcica compuesta de diversos minerales: calcio, el elemento más abundante, sodio, magnesio, zinc, manganeso, hierro, cobre, aluminio y boro, pero en menores concentraciones (Nys y Guyot, 2011).

El cascarón es poroso lo que permite el intercambio gaseoso entre el interior y el exterior (Chiba et al., 2002). El color del cascarón varía de acuerdo con la línea genética y depende la concentración de porfirinas (pigmentos) y de la alimentación de la gallina. El cascarón está recubierto por una cutícula orgánica compuesta de proteínas, lípidos y carbohidratos, los cuales forman la barrera física de defensa contra microorganismos, evita la pérdida de agua y da un aspecto brillante al huevo (Akil y Zakaria, 2015).

Las membranas que recubren el interior del cascarón son la membrana testácea interna y externa. La primera, tiene una fina estructura de fibras de queratina entrelazadas y la presencia de lisozima y la segunda, es mucho más porosa y sirve como asentamiento para la formación del cascarón. Ambas rodean el albumen y proporcionan protección contra la penetración bacteriana. Cuando el huevo baja su temperatura a menos de 38°C, las membranas se separan y constituyen la cámara de aire (Wang et al., 2015).

### **Albumen**

La clara es otro compuesto del huevo que se distingue en dos partes: albúmina densa y fluida. La primera rodea a la yema y es la principal fuente de riboflavina y de proteína del huevo. La clara está compuesta básicamente por agua (88%) y proteínas (11%). La proteína más importante es la ovoalbúmina (54% total proteico) (Quintana, 2006).

### **Vitelo**

La yema está rodeada de la membrana vitelina, que da la forma a la yema y permite que esta se mantenga separada de la clara o albumen. Las chalazas sujetan la yema para que quede centrada y son unos filamentos enrollados, que van desde la yema hasta los dos polos opuestos del huevo (Zambrowicz et al., 2014).

En el interior del vitelo, se encuentra el disco germinal o blastodisco, que es el lugar donde se inicia la división celular (INA, 2009).

## **4. FERTILIZACIÓN**

La fertilidad de una gallina se define como la capacidad de producir huevos fértiles. Dependiendo de la disponibilidad de la hembra y el macho, se pueden aparear de 10 a 30 veces al día (Quintana, 2016). La cópula de estas aves consiste en la deposición de espermatozoides en la cloaca, los cuales se desplazan hacia el infundíbulo en un tiempo de 30 minutos (Figura 6). Los espermatozoides destruyen el epitelio folicular, la membrana del óvulo y la zona pelúcida para posteriormente penetrar el espacio entre la zona pelúcida y la membrana vitelina. Provocando la

fecundación o fertilización del ovocito (Bellairs y Osmond, 2014b; Quintana, 2016) (Figura 7).



Figuras 6. Se observa la deposición de semen en la cloaca de la gallina. Los espermatozoides tienen un tiempo de 30 minutos para llegar al ovocito, situado en el infundíbulo. Tomada de: *Reproducción animal* (2015) [https://es.slideshare.net/Carmen\\_Carvajal/la-reproduccion-animal-45898734](https://es.slideshare.net/Carmen_Carvajal/la-reproduccion-animal-45898734).

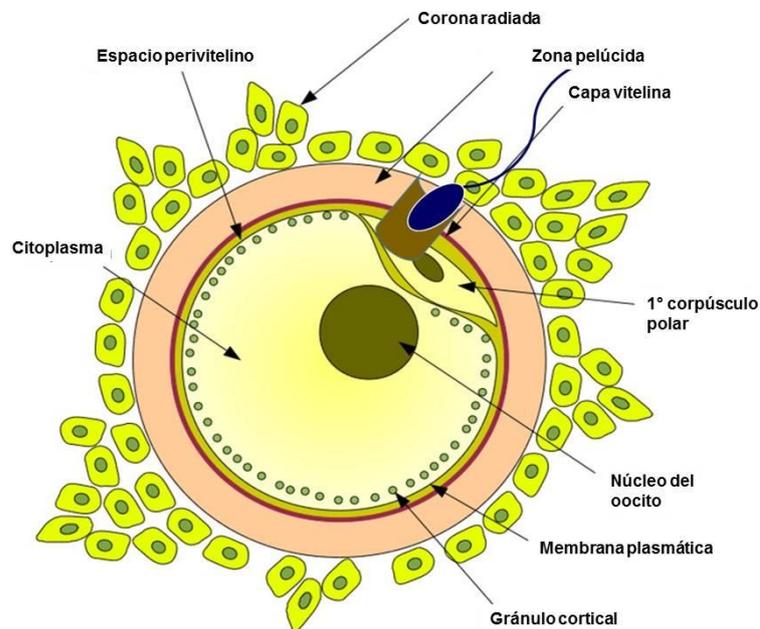


Figura 7. El espermatozoide destruye el epitelio folicular, la membrana del óvulo y la zona pelúcida para posteriormente penetrar el espacio entre la zona pelúcida y la membrana vitelina. Finalmente, se produce la fertilización del ovocito. Modificado de: *Biología humana* (2015) <http://biologiahumanaencbt3toluca.blogspot.mx/2015/03/la-fecundacion-humana.html>.

La interacción del espermatozoide con el ovocito está liderado por los receptores de la superficie celular de los gametos, que permiten la interacción específica de célula-célula; estos receptores están conformados por agentes quimiotácticos y agentes iniciadores de acrosomas que interactúan con receptores complementarios de la membrana plasmática del vitelo. El resultado de la fertilización es la activación del huevo (Metz, 1978).

Una vez que se ha llevado a cabo la ovoposición, el huevo depositado tiene una temperatura de 37.7-38°C, con la que puede iniciar la división celular. Sin embargo, la temperatura del ambiente es menor a la indicada, por lo que este proceso se mantiene en diapausa, generando cambios bioquímicos, físicos y mecánicos producidos en los constituyentes del huevo (Ramírez et al., 2009).

Sin embargo, una vez que el embrión tiene las condiciones ambientales de temperatura (36.6-37.7°C), humedad (50-60%) y ventilación adecuados, puede continuar con la división celular y posteriormente con la formación del embrión (Bellairs y Osmond, 2014b).

## **5. ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO**

El desarrollo embrionario es el proceso por el cual el contenido de un huevo fértil se convierte en un embrión, el cual irá creciendo hasta formar un pollito. Dicho contenido del huevo proporcionará la base del cuerpo del pollito y proveerá energía para su crecimiento. El desarrollo del pollito consta de tres fases que son: 1) diferenciación celular; 2) crecimiento y; 3) maduración (Cortázar, 2008).

### **5.1 Diferenciación celular**

Una vez colocado bajo las condiciones ambientales de incubación, se observa el proceso de diferenciación celular y la formación de órganos (cabeza, corazón, sistema nervioso, órganos sensoriales, extremidades anteriores y posteriores, estructuración de vértebras y asimismo, las formaciones de tejidos extraembrionarios (amnios y membrana corioalantoidea) necesarias para el transporte de oxígeno y nutrientes de la yema al embrión (Moran, 2007).

## **5.2 Crecimiento**

Esta fase se extiende aproximadamente desde el día 8 al 17. En esta etapa se incrementa la masa embrionaria y continúa el desarrollo de los órganos corporales (huesos, cartílagos, músculos, folículos del plumón, etcétera). Al final de la segunda semana, ha de poseer un tercio de su peso final (Minoprio, 2008). Para este punto de crecimiento, el ojo se encuentra completamente desarrollado y asimismo, en los días 13 y 14 se establecen los ejes hipotálamo-hipófisis-adrenales, considerándose éstos, días críticos del desarrollo embrionario (Moraes et al., 2013).

## **5.3 Maduración**

Durante los dos últimos días de desarrollo se finaliza la maduración de los órganos y hay gran pérdida de agua por parte de los tejidos. Para el día 20, se produce la reabsorción del saco vitelino al interior de su cuerpo y se cierra el ombligo. Los lípidos residuales de la yema son esenciales para proveer energía al momento del nacimiento y durante las primeras 24 horas de vida del pollito (Scott, 2006).

## **5.4 Eclosión**

El desarrollo embrionario finaliza alrededor de los días 20 y 21 de incubación, y los huevos son transferidos de la incubadora a la nacedora alrededor de los días 19 o 20. Este proceso es necesario para que el pollito, al nacer, tenga más libertad de movimiento y pueda salir del cascarón en una bandeja (SENASICA, 2014).

### **5.4.1 Desarrollo del embrión de pollo día a día**

Antes de la postura del huevo inicia la división celular (mitosis y meiosis) (Metz, 1987). Después de la ovoposición, se suspende la diferenciación celular hasta que inicia la incubación (Bellairs y Osmond, 2014a).

En el Cuadro 1 se describe el desarrollo embrionario día por día (Quintana, 2016):

**Cuadro 1. Descripción del desarrollo embrionario del pollito**

Día	Descripción	Imagen
<b>0-24 horas</b>	Se lleva a cabo la deposición de semen en la cloaca de la gallina. Los espermatozoides tienen un tiempo de 30 minutos para llegar al ovocito, situado en el infundíbulo.	
<b>1</b>	Durante las primeras 20 horas de incubación inicia la diferenciación celular que da origen a la formación del tracto digestivo, cresta cerebral y columna vertebral. Pasado este periodo, inicia la formación del cerebro y el sistema nervioso, formación de la cabeza, sistema circulatorio y ojos. El proceso completo tiene una duración aproximada de 24 horas.	
<b>2</b>	A partir de las 35 horas hasta las 46 horas inicia la formación del oído, se comienza a ver el amnios, el corazón empieza a latir, lo que da origen y se forma la garganta. Asimismo, los pliegues amnióticos craneales y caudales recubren, la cabeza hasta el corazón y la cola, respectivamente. La cabeza se acomoda en dirección izquierda.	

<p><b>3</b></p>	<p>Inicia el desarrollo del alantoides y el embrión se encuentra completamente recubierto por el amnios, incluida la yema. Inicia la formación del pico, piernas, alas y cola. El embrión está alineado de lado izquierdo.</p>	
<p><b>4</b></p>	<p>El embrión toma la postura en forma de "C". Inicia la formación de la lengua y se separa completamente del saco vitelino. El saco alantoideo se encuentra completamente vascularizado, hay crecimiento de miembros, inicia la fusión de las membranas corion y alantoides y se pigmenta el ojo.</p>	
<p><b>5</b></p>	<p>Inicia la formación del proventrículo y molleja, así como de los órganos reproductores y hay diferenciación sexual. Las articulaciones comienzan a ser visibles. Las cámaras del corazón se han formado completamente.</p>	

<p><b>6</b></p>	<p>Las piernas y las alas se dividen y se observan los dígitos del ala y las patas. Empiezan a haber movimientos voluntarios del embrión.</p>	
<p><b>7</b></p>	<p>El abdomen se vuelve prominente (desarrollo visceral). Se observan los primeros pulmones a lo largo de la región lumbosacra.</p>	
<p><b>8</b></p>	<p>Continúa la formación del plumón y el cuello se observa claramente alargado. Es posible determinar el sexo por aspecto gonadal</p>	

<p><b>9</b></p>	<p>Aparece la abertura del pico y los párpados adquieren forma de circunferencia elipsoidal.</p>	
<p><b>10</b></p>	<p>Inicia endurecimiento del pico, se aprecian los poros de la piel, hay presencia de uñas.</p>	
<p><b>11</b></p>	<p>Es visible la cresta aserrada y el plumón de la cola; el movimiento del embrión es independiente del amnios. La membrana corioalantoidea está fusionada con el cascarón.</p>	
<p><b>12</b></p>	<p>Los dedos están completamente formados, la albúmina se consume.</p>	

<p><b>13</b></p>	<p>Aparecen las escamas y las uñas. Embrión está ligeramente cubierto de plumón, los párpados se han cerrado.</p>	
<p><b>14</b></p>	<p>El embrión se orienta a lo largo del eje longitudinal del cascarón. El embrión se ha cubierto de plumón y se observan movimientos del pico.</p>	
<p><b>15</b></p>	<p>Los intestinos entran a la cavidad abdominal. El embrión aumenta rápidamente de tamaño.</p>	

<p><b>16</b></p>	<p>Las escamas, uñas y pico se vuelven firmes. La albúmina casi ha desaparecido. El saco vitelino queda ventralmente en frente del embrión.</p>	
<p><b>17</b></p>	<p>El flujo amniótico disminuye. El embrión se prepara para el nacimiento. El pico se orienta entre los muslos. Comienzan a haber contracciones del saco vitelino. La albúmina está completamente utilizada.</p>	
<p><b>18</b></p>	<p>El crecimiento del embrión es casi completo. El pico se orienta bajo el ala derecha. El saco vitelino se incorpora en cavidad abdominal. Los huevos son transferidos a la nacedora y se puede realizar la vacunación <i>in ovo</i>.</p>	

<p><b>19</b></p>	<p>El saco vitelino se introduce en cavidad abdominal. El embrión ocupa prácticamente todo el espacio del huevo, excepto la cámara de aire. Se acomoda para picar. El pico perfora la cámara de aire (internamente) e inicia la respiración pulmonar. Líquido alantoideo es completamente reabsorbido.</p>	
<p><b>20</b></p>	<p>Inicia la cicatrización del ombligo. Se rompe el amnios y la membrana interna. Inicia la respiración pulmonar. El pollito pica el cascarón.</p>	
<p><b>21</b></p>	<p>Eclosiona el pollito con ayuda del "diente de cascarón" corta una línea circular alrededor del cascarón en dirección contraria de las manecillas del reloj usando el ala derecha como guía. Después del primer picaje pueden pasar de 10-20 horas para que el pollito eclosione.</p>	

## 5. NUTRICIÓN DEL EMBRIÓN

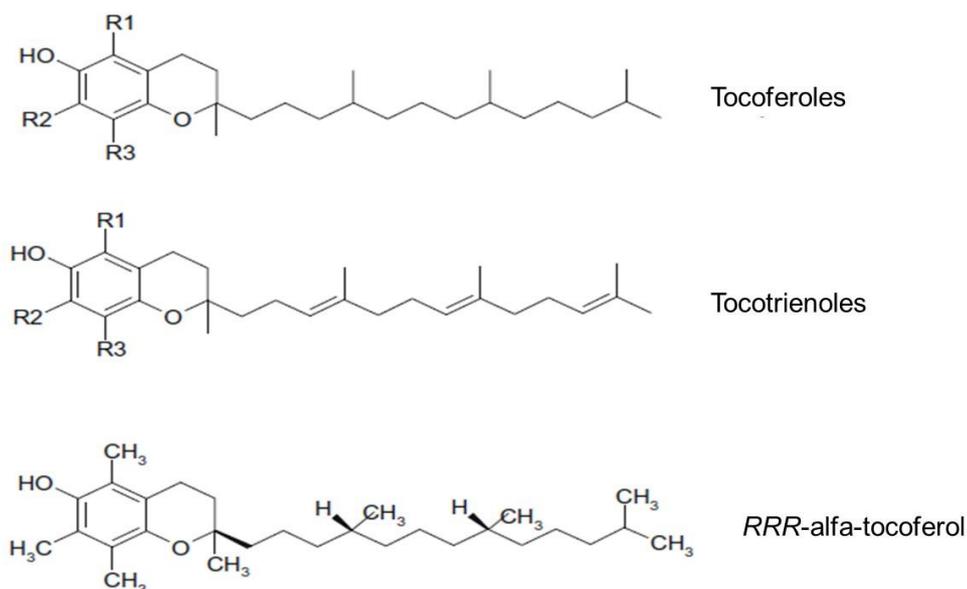
El desarrollo embrionario implica un gran consumo de energía y nutrientes contenidas en la yema que a su vez serán pilares durante el picaje y el nacimiento del pollito. Después de la eclosión, es muy común que los pollitos estén sujetos a restricciones de alimento por al menos 24-72 horas, siendo el saco vitelino el único que provee energía (Chen et al., 2010).

De manera artificial existe la alimentación *in ovo*, la cual consiste en la administración de nutrientes exógenos en el saco amniótico. La alimentación *in ovo* es una herramienta útil que permite evitar las pérdidas de peso durante el desarrollo embrionario, mejorar la calidad del pollito al nacimiento, incrementar el porcentaje de viabilidad, aumentar el peso de los pollitos al nacer y después de nacer (Moghaddam et al., 2013).

La yema de huevo es la principal fuente de lípidos, que provee energía para el temprano desarrollo embrionario. Durante esta etapa, la rápida oxidación del metabolismo puede generar la producción de grandes cantidades de radicales libres que pueden dañar al embrión (Salary et al., 2014)

### 5.1 *DI-alfa-tocoferil*

La vitamina E es una vitamina lipofílica y uno de los principales antioxidantes no enzimáticos membranales (Arrieta et al., 1999). Se compone de 2000-3000 fosfolípidos, además de tocoferoles y tocotrienoles. Consta de un anillo cromanol y una larga cadena lateral (Febles et al., 2002). Existen ocho formas naturales en la que encontramos la vitamina E: cuatro tocoferoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, y  $\delta$ -) y cuatro tocotrienoles ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, y  $\delta$ -). Los tocoferoles están constituidos por un anillo aromático y una cadena saturada, mientras que los tocotrienoles están constituidos por un anillo de isoprenoides no saturado con tres dobles enlaces. Asimismo, hay ocho posibles esteroisómeros de  $\alpha$ -tocoferol (*RRR*-  $\alpha$ -tocoferol; su forma natural) ligada a tres estero-centros en su estructura (Figura 8).



**Figura 8. Composición del *dl*-alfa tocoferil: tocoferoles y tocotrienoles. Fuente: Nakamura y Omaye (2009).**

Dadas sus formas esterificadas, incluyendo los tocoferiles- o tocotrienil-acetato y succinatos, son relativamente estables, estas formas se usan comúnmente en suplementos alimenticios. Los tocotrienoles son menos estables a altas temperaturas comparados con los tocoferoles. Además, debido a su estructura similar con la troglitazona, una de las tiazolidinas, que son formas utilizadas para medicamentos para diabéticos, la vitamina E puede actuar como ligandos para receptores activados por proliferadores de peroxisoma gamma (PPAR $\gamma$ ) (Nakamura y Omaye, 2009).

En el pollo, el hígado representa la glándula de mayor tamaño en el organismo, importante en el metabolismo de proteínas, grasas y carbohidratos; almacena y regula los niveles de *dl*-alfa tocoferil (Hossain et al., 1998) y; es el principal sitio de síntesis de agentes antioxidantes como el glutatiión. La absorción de este antioxidante depende de la cantidad de lípidos disponibles y la secreción de estereasas. Los alcoholes libres son las formas predominantes de absorción. Los porcentajes de absorción de una dosis administrada van desde el 33 al 68%. (Nakamura y Omaye, 2009). Una vez absorbida, es transportada las lipoproteínas

que circulan a nivel sanguíneo, siendo las lipoproteínas de baja densidad las que se encargan de transportar a las moléculas de alfa-tocoferol.

El  $\alpha$ -tocoferol, es uno de los principales antioxidantes presentes en las aves, capaz de evitar la rápida peroxidación del liposoma, con una velocidad de reacción de aproximadamente  $1 \times 10^7 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . (Febles et al., 2002). Su distribución se lleva a cabo en el hígado, tejidos adiposos y células no adiposas (células inmunológicas, células musculares y plaquetas), de esta manera protege las células y los tejidos del daño lipoperoxidativo inducido por radicales libres y tiene múltiples efectos en la fortificación del sistema inmune (Salary et al., 2014).

En los pollitos, durante el picaje, eclosión del pollito e inicio de la respiración pulmonar, se demanda una gran cantidad de nutrientes que sirven como combustible, y es muy común que no tengan acceso al alimento sólido por al menos 24-72 horas post-eclosión. Por lo que durante este periodo, las aves se alimentan de los residuos del saco vitelino que aporta nutrientes para proveer energía. Sin embargo, este alimento no parece ser suficiente para cumplir con los requerimientos nutricionales para el mantenimiento y crecimiento, provocando la movilización de nutrientes, principalmente de los músculos, para proveer energía causando pérdidas de peso corporal en la parvada. Dicho esto, el último tercio de desarrollo embrionario y los primeros días de vida del pollito son periodos críticos para la supervivencia de las aves, debido a la gran cantidad de energía necesaria para el catabolismo (Chen et al., 2010).

Cuando hay una deficiencia de *dl-alfa tocoferil* durante la presencia de radicales libres, ocurre una disminución de la unión  $\alpha$ -tocoferol al receptor proteico, el cual se encarga de defosforilar la proteína quinasa C e inhibir la proliferación celular. La falta de este antioxidante se asocia con la desestabilización de la membrana de las células inmunes (Hossain et al., 1998), disminución de hipersensibilidad y baja de la respuesta humoral e inmune (Febles et al., 2002; Kermanshahi et al., 2015).

La alimentación *in ovo* es una técnica que puede reducir estos efectos degenerativos. Esta técnica se utilizó primeramente como método de vacunación *in*

ovo contra la enfermedad de Marek. Años después, la inyección *in ovo* se utilizó para mejorar la calidad de las parvadas y en la actualidad, se establece, que la alimentación *in ovo* es un método benéfico que tiene efectos en la eclosión, cambios en la mucosa intestinal e incremento de peso al nacimiento y hasta los 35 días de edad del ave (Kermanshahi et al., 2015).

Se ha comprobado que la alimentación *in ovo* alrededor del día 14 (día crítico por la oxidación de ácidos grasos) con *dl-alfa-tocoferil*, reduce el estrés oxidativo y la peroxidación de lípidos e incrementa las inmonoglobulinas, además aumenta la eficiencia de utilización de energía al momento del nacimiento (Salary et al., 2014), ya que los embriones consumen estos nutrientes antes del picar la cámara de aire, incrementando hasta un 5-6% el peso de los mismos (Molenaar et al., 2010).

## **6. INCUBACIÓN ARTIFICIAL DEL HUEVO FÉRTIL**

El desarrollo embrionario de las aves, en comparación de los mamíferos, ocurre fuera del cuerpo de la madre (oviparidad) (Liu et al., 2015). Durante el último siglo, la industria avícola ha atravesado diversos cambios que afectan la crianza de pollitos, reemplazando la incubación natural por la artificial, permitiendo el control de las variables ambientales (Molenaar et al., 2010). Durante los periodos críticos de incubación, es posible estandarizar y controlar los factores ambientales (Nassar et al., 2015), ya que los embriones son muy sensibles a estos cambios durante la fase de diferenciación, por lo que, cualquier cambio durante esta fase puede tener grandes consecuencias en la organogénesis y viabilidad de los pollitos (Aminoroaya et al., 2016).

## **7. ALTERACIONES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO**

Se sabe que los factores ambientales, como la temperatura, ventilación y humedad pueden modificar el contenido del huevo fértil, provocando cambios fisiológicos, positivos y negativos (Liu et al., 2015; El-Tarabany, 2016).

### **7.1 Temperatura**

Todos los animales homeotermos, incluidos las aves mantienen una temperatura interna constante, sin embargo, existe un intercambio de calor con el ambiente que

les rodea (El-Tarabany, 2016). La temperatura adecuada para los embriones de pollo, ronda alrededor de 37.7°C (Quintana, 2016).

Durante la incubación, el intercambio de energía, calor y humedad constituyen un proceso físico, en el cual el calor producido por el metabolismo del embrión en desarrollo (regulado por el sistema nervioso central) se transfiere entre el ambiente externo y el micro-ambiente de la incubadora (el cual es disipado por la ventilación de la incubadora) determinando la temperatura de la superficie del cascarón (Romanini et al., 2015).

En la incubadora, las temperaturas se mantienen constantes con la finalidad de eliminar efectos negativos en el desarrollo embrionario, eclosión, y calidad del pollito (Piestun et al., 2011). Si la temperatura se eleva arriba de 37.7°C, el embrión atraviesa por una fase de estrés calórico, el cual a su vez provoca cambios hormonales y moleculares (Moraes et al., 2003) los cuales se ven reflejados en el sistema inmune y masa corporal de los pollitos al nacimiento (Vinoth et al., 2015).

## **7.2 Ventilación**

El intercambio de oxígeno (O<sub>2</sub>) y el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) son fundamentalmente importantes para el desarrollo embrionario. Este intercambio gaseoso se lleva a cabo dentro del huevo, y consiste en la difusión molecular de gases a través de la membrana porosa del huevo, la sangre capilar del corioalantoides (CAM) (Chiba et al., 2002) y el ambiente que le rodea (Tona et al., 2007). El intercambio de gases a través de la CAM y el flujo sanguíneo capilar comienza a degenerarse durante los últimos estadios del desarrollo prenatal, de tal manera que el pollito durante la ventana de nacimiento, rompa la cámara de aire (picaje) e inicie con la respiración pulmonar (Mortola, 2009).

Aunque se sabe que los embriones de aves toleran ambientes hipercápnicos (5-20% CO<sub>2</sub>) (Yalçin et al., 2008), esta conductancia de gases causa variaciones en la presión parcial de dióxido de carbono (P<sub>CO2</sub>), en los alveolos pulmonares y por consecuencia en la sangre. Los niveles que sobrepasan los parámetros establecidos son causantes de una acidosis pulmonar respiratoria, generando

alteraciones en el metabolismo al incrementar la concentración de bicarbonato ( $[\text{HCO}_3^-]$ ) (Burggren et al., 2015).

En la incubadora, son importantes las condiciones ambientales, especialmente del promedio de ventilación, de otra manera se expone a los pollitos a condiciones de hipoxia crónica, guiado por un bajo consumo de  $\text{O}_2$  y producción de  $\text{CO}_2$  provocando bajas en el peso y anomalías en el desarrollo (Tona et al., 2007).

### **7.3 Humedad**

Los mecanismos fisiológicos que regulan los efectos a largo plazo en los pollitos, incluida la termorregulación, puede ser alterada por los cambios de energía y el intercambio de humedad entre el huevo y el micro-ambiente (Moraes et al., 2004). El porcentaje de humedad apropiada para un embrión de pollo en desarrollo gira alrededor de los 50-60%. Sin embargo, una alza en el porcentaje mencionado provoca pérdidas de calor por evaporación están ligadas a la cantidad de vapor de agua por difusión a través de los poros del cascarón del huevo, (alta concentración) al ambiente de la incubadora (baja concentración), los cuales provocan pérdidas de peso en el huevo durante la incubación (Romanini et al., 2015).

Justo antes de la eclosión del pollito, se liberan una gran cantidad de líquidos al interior de la membrana del huevo. Al nacer la mayoría de las aves, se eleva el pico de humedad en la nacedora, esta cantidad de líquidos son generados por la oxidación de los lípidos de la yema (Willemsen et al., 2010); teniendo como resultado pollitos recién nacidos con la superficie del cuerpo húmeda. El agua contenida en la superficie de los pollitos se irá evaporando conforme a la temperatura producida por la nacedora que a su vez, termorregulará y adaptará a los animales recién nacidos (Romanini et al., 2015).

### **7.4 Variables transováricas y Calidad del huevo**

El desarrollo embrionario se observa en función del estatus sanitario, la nutrición, el peso corporal y la edad de las gallinas reproductoras (Akil y Zakaria, 2015). Se ha establecido que los mejores resultados en incubabilidad, tiempo de eclosión y peso del pollito al nacimiento provienen de los huevos fértiles puestos por aves

reproductoras de 30 a 40 semanas de edad (Vázquez et al., 2006; Ibrahem et al., 2013).

Los diferentes tamaños y la calidad del cascarón están dadas por la cantidad de nutrientes en la dieta y estirpe de las gallinas (Akil y Zakaria, 2015). Se ha visto que cuando las aves reproductoras no reciben los nutrientes necesarios durante la ovoposición, baja el porcentaje de postura, se adelgaza el cascarón y se decrece la cantidad de calcio y proteínas en el huevo (Ying et al., 2015). Esto también, se relaciona con la pérdida de humedad y pérdida de peso del embrión durante la incubación (Vázquez et al., 2006).

### **7.5 Variables experimentales**

Así como los tratamientos nutricionales, la modificación a las condiciones ambientales, como la adición de variables experimentales, como la luz, el sonido, los aromas, entre otros, han tenido un gran efecto en la organogénesis de los embriones de pollos (Yahav et al., 2004; Liu et al., 2015).

### **7.6 Luz**

La luz se define como algo que emana de un cuerpo luminoso, choca contra los objetos y rebota de ellos. Está constituida por numerosas partículas y se considera un fenómeno ondulatorio, ya que su propagación es de la misma naturaleza que la de una onda. La luz, se caracteriza por tener 1) Propagación rectilínea (300 mil km/s en el vacío) y 2) Se refleja (cuando se irradia en una superficie lisa, los rayos luminosos son rechazados o reflejados en una sola dirección) (Pérez, 1997).

La luz se puede cuantificar por la intensidad luminosa, flujo luminoso y por la iluminación. La **intensidad luminosa**, es la cantidad de luz producida o emitida por un cuerpo luminoso y se cuantifica por medio de las candelas ( $cd=1/60$  que emite  $1\text{ cm}^2$  de un cuerpo negro); el **flujo luminoso**, es la cantidad de energía luminosa que atraviesa en la unidad de tiempo una superficie normal (perpendicular) a los rayos de la luz, se mide por lúmenes ( $1\text{cd}/ 1\text{m}^2$ ) y finalmente; la **iluminación** se define por una superficie que recibe cierta cantidad de luz, su unidad de medición es el lux (Newberry et al., 1988) ( $1\text{cd}/ 1\text{m}^2 * 1\text{m}$ ).

## 7.7 Luz verde

En las incubadoras comerciales, los embriones son colocados en completa oscuridad (Archer et al., 2009). Sin embargo, en la actualidad se sabe que el rol de la luz monocromática (LED) en las actividades biológicas está asociado con la aceleración del desarrollo embrionario (Rozemboim et al., 2013) y el nacimiento de las aves (Archer y Mench, 2014).

En las aves, el ciclo circadiano es más complejo en comparación con los mamíferos, ya que en las aves, el núcleo supraquiasmático y la glándula pineal contienen osciladores que se auto-sostienen. La hormona melatonina, la cual se secreta rítmicamente desde la glándula pineal, posee receptores en el hipotálamo. Durante la ontogénesis, el ritmo de melatonina se desarrolla tempranamente, en respuesta a la ausencia de la melatonina maternal (Zeman et al., 2001). Se dice que la exposición de los embriones a luz monocromática verde penetra el cascarón, estimulando principalmente los fotorreceptores retinales o pineales, después al sistema endocrino y finalmente, a los músculos (Rozemboim et al., 2013). Este proceso tiene mayor eficacia durante los días críticos de incubación (días 3, 7, 14 y 19) (Öskan et al., 2012; Moraes et al., 2013) ya que provoca cambios perinatales epigenéticos en las funciones del cuerpo (impronta de las funciones del cuerpo) (Nassar et al., 2015).

Durante la vida prenatal, las células derivadas del mesodermo de la madre se convierten en células miogénicas, que dan origen a los mioblastos, estos mioblastos proliferan y se diferencian en miotubos multinucleados, para finalmente formar fibras musculares maduras (Hui et al., 2016), por lo que al nacer el pollito, las fibras musculares ya están completamente formadas e incrementarán de acuerdo con el porcentaje de proteína recibido en la alimentación así como por el contenido de ADN y ARNm (Rozemboim et al., 2013). Este último, es de gran importancia ya que permite el acrecentamiento de los músculos, gracias a unas células especializadas llamadas “células satélite”, que son únicas en su tipo y están relacionadas a las células miogénicas presentes durante la etapa embrionaria (Halevy et al., 1998). Estas células se estimulan o se inhiben durante el proceso de diferenciación por la

hormona del crecimiento (GH) y por el factor de crecimiento insulínico (IGF-I), sumado a ello, la manipulación de las condiciones ambientales, como la luz, inducen la proliferación, diferenciación y fusión de las células musculares (Archer y Mench, 2014).

A nivel más específico, la fotoestimulación, expresa y eleva hasta 9 veces más los genes PAX o Pax (del inglés "Paired box"), particularmente Pax7 (importantes para la proliferación de células satélites que permiten adelantar el nacimiento), y cuatro veces más la miogenina (factor regulador de la miogénesis). La sobreexpresión de estos dos factores sugieren la aceleración del crecimiento y desarrollo de los músculos, elevando el peso corporal y adelantando el nacimiento de los pollitos (Rozemboim et al., 2013).

### **7.7.1 Sonido**

Los estudios de comportamiento, electrofisiología, resonancia magnética e imagenología en aves, indican el comienzo de la maduración funcional del sistema auditivo y su susceptibilidad a la manipulación experimental así como una influencia para el desarrollo de sonidos específicos de especies mientras se desarrollan (Alladi et al., 2002). Estudios previos han indicado cambios morfológicos en los núcleos del tronco cefálico, el núcleo magnocelular y el núcleo laminar así como (Chaudhury y Wadhwa, 2009) la expresión temprana de genes e incremento en la expresión sináptica de ciertas proteínas al exponer a los embriones a estimulaciones prenatales (Kumar et al., 2014).

Estas modificaciones en el tronco cefálico generan respuestas visibles en los últimos días de incubación, que al generar cambios en su fisiología, alteran el tiempo y las condiciones de incubación (Alladi y Wadhwa, 2001) y, durante los primeros días de vida de los pollitos, estos cambios se ven reflejados principalmente en su conducta y en el contacto con su nuevo ambiente (Alladi et al., 2005).

### **7.7.2 Aromas**

El pollito doméstico ha mostrado una gran amplitud de respuestas de comportamiento a condiciones experimentales, entre ellas incluidas los olores

naturales. Estas respuestas se han observado en pollitos de varias edades (Sneddon et al., 1998). Sin embargo, existen estudios que se han realizado en embriones de 20 días de edad, a los cuales se les han colocado concentraciones de diferentes olores, permitiendo la memorización de estos olores antes de su eclosión, que se vuelven de gran importancia para la fijación de otras actividades como lo son, el aprendizaje de comer, evitar depredadores o ingerir sustancias dañinas (Porter et al., 1999).

Entre algunos de los olores más comunes utilizados para este tipo de experimentos se encuentran el aroma de fresa y aceite de naranja con los cuales se ha visto una temprana eclosión y mejor adaptación a su ambiente (Burne y Rogers, 1999).

## **8. PARÁMETROS DEL POLLITO RECIÉN NACIDO**

Las nacedoras tienen características especiales para agilizar el proceso de eclosión de los pollitos y asegurar la vitalidad de los mismos. Entre las características más importantes se encuentran la ventilación, humedad y temperatura (Decuyper y Bruggeman, 2007). La ventilación, es importante ya que cuando el embrión pica la cámara de aire del huevo, se produce el estímulo nervioso para que comience la respiración pulmonar y es importante que la nacedora contenga altos niveles de oxígeno (O<sub>2</sub>), para eliminar el anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>) y evitar la asfixia de los pollitos. La humedad, sirve para ayudar al pollito a romper la membrana y cascarón, y que éste no se quede con el pico pegado a la cáscara o a la membrana interna del huevo y asimismo, evitar que se deshidraten. La humedad relativa de una nacedora se encuentra entre 60-70%. En cuanto al control de la temperatura, se debe procurar evitar el fenómeno de sobrecalentamiento del pollito. Así, la temperatura óptima en bandejas metálicas debe de ser de 37.1°C mientras que en las de plástico de 36.8°C (Graham, 2006).

Se definen parámetros del pollito, a los aspectos físicos, inmunológicos, fisiológicos y locomotores positivos desarrollados durante el crecimiento del embrión hasta el nacimiento del pollito. La calidad del pollito es de vital importancia para los

productores debido a que se refleja en los parámetros de mortalidad durante la primera semana de vida y la productividad de la parvada (Quintana, 2016).

La evaluación de la calidad del pollito al nacimiento se realiza por medio de una serie de parámetros subjetivos, a los cuales se les designa un valor que suman el 100%. De acuerdo con Boerjan (2002) y Tona (2003), algunos de los parámetros que se pueden evaluar son los siguientes:

### **8.1 Peso**

Esta variable es de gran importancia debido a que el peso influye directamente sobre el peso de la primera semana de vida y con el peso final al ciclo productivo. Es importante realizar la medición del peso continuamente ya que es un indicador de tiempo de almacenamiento y deshidratación del pollito durante la incubación. El peso ideal de un pollito al nacimiento es de 42-50 g (Quintana, 2016).

### **8.2 Longitud del pollito**

La longitud promedio de un pollito circula alrededor de los 11-13 cm. Este parámetro indica la cantidad de nutrientes que asimiló el pollito durante el desarrollo embrionario. La diferencia de 1 cm en la longitud del pollito, hace que mejore su conversión alimenticia (Quintana, 2016).

### **8.3 Longitud de los tarsos**

En el caso de los huesos largos, puede que no exhiban malformaciones como tal, sin embargo, se observa la reducción de su crecimiento hasta 25% debido a que la condricación que se lleva desde el día 16 hasta el 19 de incubación falla y los huesos sesamoideos como la rótula y los cartílagos tibiales de los tarsos frecuentemente detienen su crecimiento (Hogg y Hosseini, 1992).

### **8.4 Piel**

La diferenciación de la epidermis del pollito, es establecida por el mesénquima, la cantidad de colágeno y melanina (Rymer *et al.*, 2007) son los encargados de dar el color a las fibras de la dermis conforme se lleva a cabo el desarrollo embrionario,

siendo normalmente, un color amarillento el que se fija en la piel del pollito (Carinci, 1974).

### **8.5 Plumas**

La formación de las plumas primordiales se debe a una serie de señales inductivas y recíprocas entre la dermis y la epidermis. La dermis deriva del engrosamiento del ectodermo superpuesto y como resultado se forma la epidermis. Estas señales consisten en la transcripción de las células tempranas de los factores celulares  $\beta$ -1, que depende de la regulación genética de los pollitos. Una vez que los pollitos nacidos se secaron, se pueden observar los plumones de un color amarillo, sin presencia de suciedades, ya sean membranas o sangre (El-Magd et al., 2014).

### **8.6 Cráneo**

Debido a efectos teratogénicos, la mayoría de los pollitos nacidos presentan dismorfologías, retrasos en el crecimiento y desarrollo del sistema nervioso central (SNC), así como problemas motores y cognitivos. Esto se relaciona con el manejo que el humano da a las variables ambientales durante la incubación. Por ello, se ha observado que la formación de órganos complejos como el cerebro, cráneo, corazón, riñones y extremidades, que requieren gran cantidad de tejidos, señales intercelulares y movimientos extensos morfogénicos, sean alterados generando malformaciones. La revisión del cráneo es importante ya que se busca eliminar algún tipo de defecto presente en el mismo, ya sea por su suavidad o inflamación (Kiecker, 2016).

### **8.7 Pico**

El pico, es una de las estructuras de mayor importancia durante la última de desarrollo embrionario, ya que gracias a él el pollito podrá romper la cámara de aire y el cascarón para poder eclosionar. Sin embargo, se han visto deformidades de pico en las cuales normalmente, el pico no se encuentra correctamente alineado.

### **8.8 Quilla, escápula, alas y tarsos**

La respuesta de varios tipos celulares, como los mioblastos o los fibroblastos y las células osteoprogenitoras aumentan por la estimulación del incremento de la

síntesis de ADN y la división celular. Debido a que el pollito se ha usado como modelo para el desarrollo del sistema músculo-esquelético, es posible conocer los tipos de malformaciones que se generan durante el desarrollo embrionario (Tjørve y Tjørve, 2010).

Se ha observado que los huesos de la región torácica tienden a arquearse, fusionarse con las vértebras cervicales y asimismo, distorsiones en la clavícula, escápula, costillas. En los tarsos, es posible observar zonas de inflamación e incluso necróticas, las cuales pueden ser asociadas con un estrés crónico ya sea por el manejo constante de los embriones para investigación (Igarashi et al., 1981) o por un proceso de enfermedad que se genera durante el desarrollo embrionario (Yahav et al., 2004).

### **8.9 Ojos**

Los ojos se desarrollan completamente para el día 7 de incubación. Al momento del nacimiento deben ser brillantes sin protuberancias e inflamación (Nickla y Totonelly, 2016). Es posible encontrar este tipo de deformidades debido a un inadecuado manejo de la luz durante la incubación, y asimismo, es posible encontrar otro tipo de mutaciones genéticas como el albinismo o la malformación de las vías oculares durante el desarrollo embrionario por la manipulación ambiental (Kiecker, 2016).

### **8.10 Ombligo**

Antes de nacer, el pollito absorbe el saco vitelino de tal manera que al nacimiento, el ombligo se encuentra completamente cerrado. Sin embargo, es muy común encontrar hernias umbilicales debido a la falta de tiempo de incubación o bien, por la manipulación ambiental que se le dio al pollito durante los últimos días de incubación (Bellairs y Osmond, 2014a).

### **8.11 Viveza**

La vitalidad de los pollitos refleja el potencial fisiológico obtenido como resultado de una óptima diferenciación, crecimiento y maduración de todos los órganos y sistemas de control fisiológico así como el reflejo de un adecuado manejo de las condiciones ambientales durante la incubación (Cortázar, 2008).

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La avicultura es una de las actividades económicas más importantes a nivel mundial (Fontana et al., 2015) y de rápido crecimiento (Chica y Dávila, 2003). En las últimas décadas, se ha observado un inmenso interés en la nutrición animal, la investigación y el desarrollo enfocado en el mejoramiento sanitario, resistencia a enfermedades y productividad, generando impactos positivos a nivel económico, ambiental y social (Gangadoo et al., 2016). Como consecuencia, los productos avícolas se encuentran ampliamente expuestos a la competencia internacional y se ha evidenciado un avance importante en materia tecnológica, como preámbulo de esta situación (Van Mierlo et al., 2013).

Es por ello, que existen otras áreas comunes referentes a la producción de insumos avícolas, pero con un enfoque de investigación como las granjas farmacéuticas para la producción y conservación de embriones de calidad (Lassen et al., 2006). La importancia de estas áreas consiste básicamente en generar nuevos conocimientos que conciernen a la manipulación de embriones para la modificación genética (Bulfield, 2000), el conocimiento y desarrollo de estudios referentes a los diferentes sistemas biológicos que conforman un organismo (Vargas et al., 2007), desarrollo y continuación de nuevas biotecnologías aplicables primeramente en animales y consecuentemente en humanos y la formación de bancos genómicos, ya sea por germoplasmas (Harnal et al., 2002) o por el uso de embriones criopreservados (Mara et al., 2013), para el almacenamiento y uso de estos biomateriales útiles en la preservación de ciertas especies (Vilela et al., 2016).

Por todo lo anterior, el presente estudio busca la experimentación de la suplementación de dl-alfa tocoferil en combinación con la luz verde monocromática para conocer el efecto que tienen sobre el desarrollo embrionario del pollito y la calidad del mismo al nacimiento.

## **V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿La suplementación de dl-alfa tocoferil combinada con el efecto de luz “verde” inducirán cambios en los parámetros de calidad del pollito al nacimiento?

## **VI. HIPÓTESIS**

El efecto de la luz verde, incrementará el metabolismo de la dl-alfa tocoferil suplementada en el vitelo embrionario, por lo cual se obtendrán pollitos con mejor desarrollo de los órganos, lo cual se reflejará en un mayor desarrollo musculo esquelético de los pollitos.

## **VII. OBJETIVOS**

### **General**

- ✓ Evaluar en pollitos recién nacidos, el efecto de la suplementación con dl-alfa tocoferil y exposición a luz verde durante el desarrollo embrionario.

### **Específicos**

- ✓ Determinar los parámetros de calidad de pollitos expuestos a luz verde durante su desarrollo embrionario.
- ✓ Determinar los parámetros de calidad de pollitos suplementados con dl-alfa tocoferil durante su desarrollo embrionario.
- ✓ Conocer el efecto de combinar la administración de dl-alfa tocoferil y exposición a Luz verde durante el desarrollo embrionario, en los parámetros de calidad del pollito recién nacido.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Protocolo de trabajo

Se trabajó con 80 embriones de la línea genética Bovans White con 4 días de almacenamiento y provenientes de reproductoras con un ciclo de reproducción de 22 semanas de edad, con los cuales se formaron 4 tratamientos:

- 1) Control (Luz natural)
- 2) Luz natural + dl-alfa tocoferil
- 3) Luz verde
- 4) Luz verde + dl-alfa tocoferil

Los huevos obtenidos se desinfectaron con Yodo al 8% (Isodine®), se ovoscopiaron y se evaluaron de acuerdo con la calidad del cascarón. Los huevos obtenidos se colocaron en una incubadora comercial. Los embriones se incubaron bajo las mismas condiciones ambientales:

- |                |                         |
|----------------|-------------------------|
| 1. Temperatura | 37.7°C                  |
| 2. Humedad     | 60%                     |
| 3. Ventilación | 14 cm <sup>3</sup> /min |
| 4. Volteo      | Cada 90 minutos         |

### 2. Condiciones de las variables a estudiar

Antes de incubar los huevos, éstos se evaluaron de acuerdo con sus características físicas, con la finalidad de seleccionar los incubables de los no incubables. Los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes:

- Textura: Se manipularon los huevos y se determinó la calidad del cascarón.
- Color: Se observaron los huevos y se anotó el color.
- Forma: Se observaron y se evaluaron de acuerdo con la forma que tenían los huevos.

Para ello, se utilizó una tabla de registros en la que se clasificó la descripción de cada variable, para la calidad del huevo y para el proceso de incubación, en el cual se evaluó, por medio de la ovoscopia la viabilidad de los embriones; para ello se realizaron dos ovoscopías durante todo el transcurso de la incubación. La primera, se llevó a cabo en el día 0 (antes de incubar) con la finalidad de descartar material contaminado o infértil. La segunda ovoscopia, se realizó en el día 6 de incubación (Cuadro 2).

## Cuadro 2. Tablas de registros para calidad del huevo y proceso de incubación

REGISTRO: \_\_\_\_\_ HOJA \_\_\_\_ DE \_\_\_\_  
 FECHA INICIO: \_\_\_\_\_ FECHA DE TÉRMINO: \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENTO: \_\_\_\_\_  
 ORIGEN DEL HUEVO (LOTE): \_\_\_\_\_

**CALIDAD DEL HUEVO Y PROceso DE INCUBACIÓN:**

ID	PESO	TEXT	COLOR	FORMA	EDAD HUEVO	ESTIRPE	EDAD GALLINA	CALEND LUZ	OVOSC	VIT E	OVOSC	PI
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												

PESO: (Gramos) TEXTURA: 1Liso 2Rugosa 3Delgada 4Otra COLOR: 1Blanco 2Crema 3Pinto 4Otro FORMA: 1Propia 2Ovalada 3Redonda 4Otra EDAD HUEVO: N° de días de puesto ESTIRPE: De la gallina EDAD DE GALLINA: En semanas de postura
---

CALENDARIO LUZ: Horas luz/ Horas oscuridad OVOSCOPIA: Fecha y hora/ 1Vivo 2Muerto VITAMINA E: Hora de aplicación OVOSCOPIA: Fecha y hora/ 1Vivo 2Muerto PICAJE: Fecha y hora 1Cámara aire 2Saco vitelino 3Otro ECLOSIÓN: Fecha y hora/ 1Vivo 2Muerto
---

## **2.1 Luz Verde**

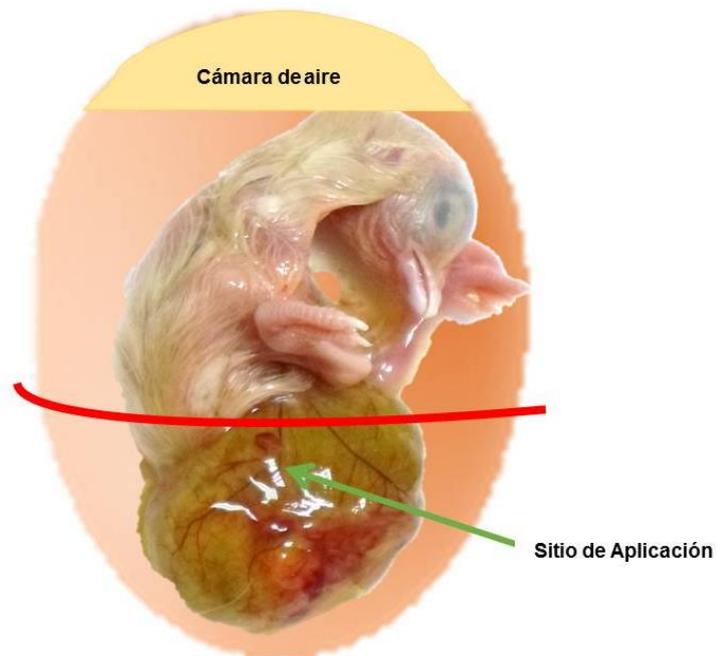
Para la luz verde se utilizaron 2 focos LED color verde marca Ecosmart™ de 5 watts, correspondientes a 5 lux (Halevy et al., 1998). Estos se colocaron en la incubadora en la parte superior de la misma, de tal manera que la luz se distribuyera en toda la incubadora. La luz se colocó a partir del día 7 de desarrollo embrionario hasta el día 20 con un fotoperiodo 14:10 Luz: Oscuridad.

## **2.2 dl-alfa tocoferol**

Se utilizaron cápsulas de dl-alfa tocoferol Eternal® que contienen Acetato de dl-alfa tocoferil de 400mg, equivalentes a 400 U. I. dl-alfa tocoferol. La inyección se aplicó en el día 14 de incubación. Se utilizaron jeringas desechables con aguja de insulina de 25mm de grosor (Salary et al., 2014) y la inyección se aplicó en el saco vitelino (Bhanja et al., 2003).

## **Inyección *in ovo***

Se estandarizó una técnica en la cual se trazó una línea imaginaria que dividiera la mitad del huevo, de tal manera que, el embrión quedará en la parte superior del huevo y el saco vitelino en la parte inferior. Seguido de esto, con ayuda de la aguja de la jeringa, se perforó cuidadosamente la parte inferior del huevo y se aplicó el dl-alfa tocoferil (Figura 7). Para finalizar, se selló el orificio con una gota de Resistol blanco. El tiempo máximo para este procedimiento fue de 40 seg/huevo.



**Figura 9. Localización del embrión y del saco vitelino. Fuente: Rocio López (2017).**

Cada parámetro presentado, se registró de acuerdo con lo que se observó al examinar a los pollitos las claves asignadas que se muestran en el Cuadro 3.

### Cuadro 3. Tablas de registros para calidad del pollito recién nacido

REGISTRÓ: \_\_\_\_\_ HOJA \_\_\_\_ DE \_\_\_\_  
 FECHA INICIO: \_\_\_\_\_ FECHA DE TERMINO: \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENTO: \_\_\_\_\_  
 ORIGEN DEL HUEVO (LOTE): \_\_\_\_\_

<b>CALIDAD DEL POLLITO</b>
----------------------------

ID	PESO	LONG	LONG PATA	PIEL	PLUMAS	CRANEO	QUILLA	ESCAPULA	ALAS	TARSOS	GLANDULA UROPIGIANA	PARASITOS	OJOS	OMBLIGO
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														

PESO DEL POLLITO (gms) LONGITUD DEL POLLITO (cm) LONGITUD DE LA PATA (cm) PIEL    1 Pálida    2 Amarillenta    3 Hiperémica    4 Normal PLUMAS 1 Limpias 2 Secas        3 Sucias        4 Húmedas CRANEO 1 Piramidal 2 Redondeada 3 Inflamada QUILLA 1 Sólida    2 Blanda        3 Otra				
---	--	--	--	--

ESCÁPULA                    1 Propia            2 Blanda            3 Otra ALAS (FORMA)            1 Propia            2 Inflamadas       3 Otras TARSOS (FORMA)        1 Propia            2 Hinchadas       3 Protuberancias GLANDULA UROPIGIANA   1 Propia            2 Hinchadas       3 Protuberancias PRESENCIA DE PARASITOS 1 Sí                2 No OJOS                        1 Limpios           2 Sucios            3 Inflamados OMBLIGO                   1 Limpio y Sellado 3 Inflamado y No Cicatrizado PICO                        1 Propia            2 Inflamado       3 Protuberancias   4 Deformado ANIMO                      1 Interés           2 Deprimido
--

Una vez clasificadas las variables observadas, se procedió a calificar con el puntaje asignado a cada criterio evaluado en los pollitos recién nacidos (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Puntaje de cada parámetro para la calidad del pollito al nacimiento.**

<b>Calidad del pollito recién nacido</b>		
Piel	1. Normal	<b>10 pts.</b>
	2. Hiperémica	<b>7.5 pts.</b>
	3. Amarillenta	<b>5 pts.</b>
	4. Pálida	<b>2.5 pts.</b>
Calidad de las Plumas	1. Limpias y secas	<b>10 pts.</b>
	2. Sucias y húmedas	<b>0 pts.</b>
Cráneo	1. Piramidal	<b>10 pts.</b>
	2. Redondeado	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamado	<b>0 pts.</b>
Quilla	1. Sólida	<b>10 pts.</b>
	2. Blanda	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamada	<b>0 pts.</b>
Escápulas	1. Sólida	<b>10 pts.</b>
	2. Blanda	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamada	<b>0 pts.</b>
Alas	1. Sólida	<b>10 pts.</b>
	2. Blanda	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamada	<b>0 pts.</b>
Tarsos	1. Sólida	<b>10 pts.</b>
	2. Blanda	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamada	<b>0 pts.</b>
Ojos	1. Limpios	<b>10 pts.</b>
	2. Sucios	<b>5 pts.</b>
	3. Inflamados	<b>0 pts.</b>
Ombbligo	1. Limpio y sellado	<b>10 pts.</b>
	2. Inflamado y no cicatrizado	<b>0 pts.</b>
Pico	1. Propia	<b>10 pts.</b>
	2. Inflamado	<b>7.5 pts.</b>
	3. Protuberancias	<b>5 pts.</b>
	4. Deformidades	<b>2.5 pts.</b>
Viveza	1. Interés por el ambiente	<b>10 pts.</b>
	2. Deprimido	<b>0 pts.</b>

Una vez obtenidos todos los puntajes se procedió a realizar la sumatoria de todos los criterios para así, poderlos clasificar en 3 tipos de calidades (Boerjan, 2002):

1. Primera calidad: (sumatoria de <110 pts.) = 100-66.66%
2. Segunda calidad: (sumatoria de <60 pts.) = 66-33.33%
3. Tercera calidad: (sumatoria de <30 pts.) = 33-0%

#### **4. Análisis estadístico**

Para cada una de las variables: peso al nacimiento, longitud del pollo y de los tarsos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), se compararon las medias de tratamientos usando la prueba de T de *Student*, con un nivel de significancia  $\alpha$  de 0.05 ( $P \leq 0.05$ ).

Para las variables de respuesta: color de la piel, calidad de las plumas, forma del cráneo, pico, quilla, escápula, alas y tarsos, forma de los ojos, limpieza del ombligo y viveza del pollito, primeramente se realizó la clasificación de los pollitos de acuerdo con las calidades mencionadas y posteriormente se realizó un análisis de correspondencias múltiples para conocer la relación entre las variables y los tratamientos.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Peso, longitud del pollito y longitud de tarsos

La comparación de las variables de peso al nacimiento, longitud del pollito y de los tarsos entre los tratamientos se observa en el Cuadro 5.

**Cuadro 5. Peso al nacimiento, longitud de pollitos y longitud de tarsos.**

Tratamiento	Peso (g) $\bar{X} \pm D.E.$	Longitud del pollito (cm) $\bar{X} \pm D.E.$	Longitud de tarsos (cm) $\bar{X} \pm D.E.$
<b>Luz natural</b>	39.91±6.41 <sup>a</sup>	10.55±1.78 <sup>a</sup>	2.85±0.56 <sup>a</sup>
<b>Luz natural + dl-alfa-tocoferil</b>	38.00±4.44 <sup>a</sup>	10.75±0.75 <sup>a</sup>	2.75±0.42 <sup>a</sup>
<b>Luz verde</b>	51.50±5.25 <sup>b</sup>	10.19±1.72 <sup>a</sup>	2.23±0.75 <sup>b</sup>
<b>Luz verde + dl-alfa-tocoferil</b>	45.90±6.40 <sup>c</sup>	10.99±1.41 <sup>a</sup>	2.19±0.61 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferente literal son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).  
n=20 embriones por tratamiento.

- **Peso**

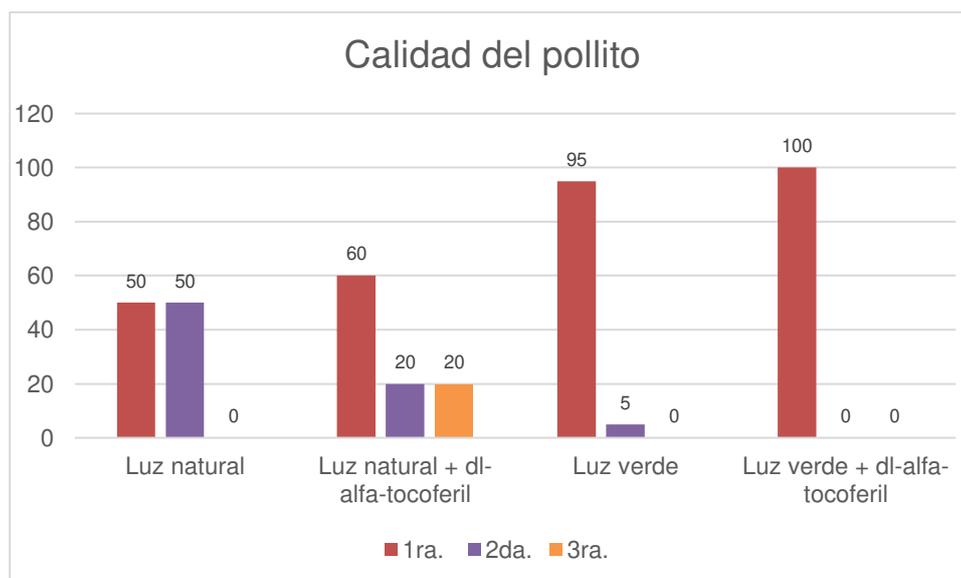
Estos resultados destacan que los pollitos nacidos del tratamiento de luz verde y luz verde + dl-alfa-tocoferil, tuvieron una ganancia de peso significativa (51.50±5.25; 45.90±6.40) ( $P < 0.05$ ) en comparación con los demás tratamientos. No se observan diferencias significativas entre los tratamientos de luz natural y luz natural + dl-alfa-tocoferil (39.91±6.41; 38.00±4.44).

- **Longitud del pollito y longitud de tarsos**

En relación con la longitud del pollito no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, se puede destacar que los tratamientos suplementados con dl-alfa-tocoferil tuvieron una longitud promedio más elevada (10.99±1.41; 10.75±0.75) en comparación con aquellos que no fueron suplementados. Cabe señalar, que la combinación de la luz verde con la dl-alfa-tocoferil aumentó la longitud de los pollitos recién nacidos. Sin embargo, los resultados obtenidos para la longitud de los tarsos, muestran diferencias significativas entre los dos tratamientos de luz natural (2.85±0.56; 2.75±0.42) comparados con los de luz verde (2.23±0.75; 2.19±0.61), siendo los primeros dos tratamientos, los que mayor longitud de tarsos obtuvieron (Cuadro 5).

## 2. Calidad del pollito al nacimiento

De acuerdo con la Figura 10, la clasificación de los pollitos en los criterios evaluados, resalta que los tratamientos con luz verde tuvieron un porcentaje elevado de pollitos de primera calidad en comparación con los de luz natural, siendo la combinación de la luz verde + dl-alfa-tocoferil el que obtuvo 100% de pollitos de primera calidad, mientras que el tratamiento de luz verde obtuvo 95% de pollitos de primera calidad y 5% de pollitos de segunda calidad. Ninguno de los dos presentó pollitos de tercera calidad. En cuanto a los tratamientos de luz natural, se observa que el tratamiento de luz natural + dl-alfa-tocoferil, a pesar de que presentó porcentajes en las 3 diferentes calidades de los pollitos evaluados, resalta un índice aceptable de pollitos de primera calidad (60%) comparado con el de luz natural (50%). Sin embargo, el tratamiento de luz natural no presentó pollitos de tercera calidad como el tratamiento combinado con la dl-alfa-tocoferil (0; 20, respectivamente).

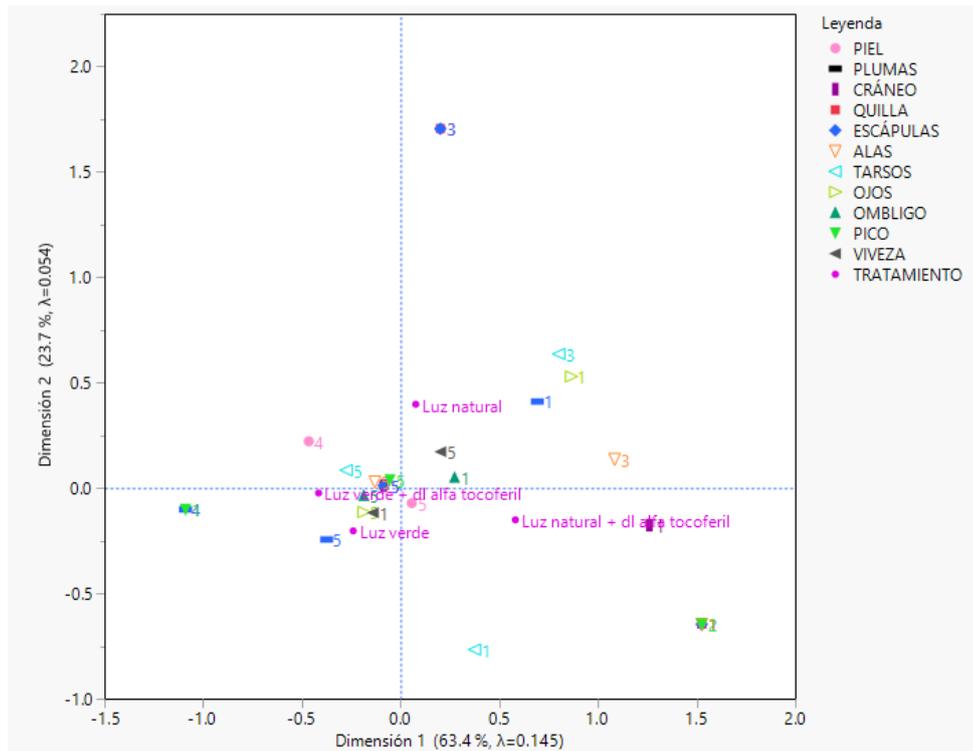


**Figura 10. Clasificación de los porcentajes de las tres calidades de pollito al nacimiento obtenidos de acuerdo a los criterios evaluados.**

Por otro lado, para el análisis de correspondencias se obtuvieron datos que explican la dispersión de los datos respecto de los tratamientos evaluados, como se puede ver en el Cuadro 6, el cual se explica de la siguiente manera: entre mayor sea el dato, como sucedió con los tratamientos de luz natural + dl-alfa-tocoferil (0.40570) y luz verde + dl-alfa-tocoferil (0.24810), más dispersas están las variables del efecto y si es menor, como lo fue en el tratamiento con luz verde (0.16757) y luz natural (0.17864), mayor será el efecto del tratamiento en las variables evaluadas. Asimismo estos resultados están ligados con la Figura 11, el cual nos da un panorama general del comportamiento de los tratamientos sobre las variables.

**Cuadro 6. Efecto de los tratamientos sobre los parámetros de calidad de acuerdo a la inercia de los datos**

Tratamiento	Inercia
<b>Luz natural</b>	0.17864
<b>Luz natural + dl alfa tocoferil</b>	0.40570
<b>Luz verde</b>	0.16757
<b>Luz verde + dl alfa tocoferil</b>	0.24810



**Figura 11. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos en las dimensiones 1 y 2.**

Considerando que los gráficos de los análisis de correspondencias están formados por dos rectas numéricas, donde “X” es la recta horizontal y “Y” la recta vertical y donde tenemos valores positivos y negativos, de acuerdo a la Figura 11, es posible notar que la mayoría de las variables están aglomeradas en la intersección de los ejes del mapa, en la cual, se observa muy marcado el efecto del tratamiento con luz verde + dl-alfa-tocoferil. Asimismo, se observa que algunos parámetros como calidad de la piel y forma del pico se encuentran alejados de los cuatro diferentes tratamientos.

A continuación, se describe a mayor profundidad la relación de cada parámetro con los tratamientos visto desde otras dos dimensiones.

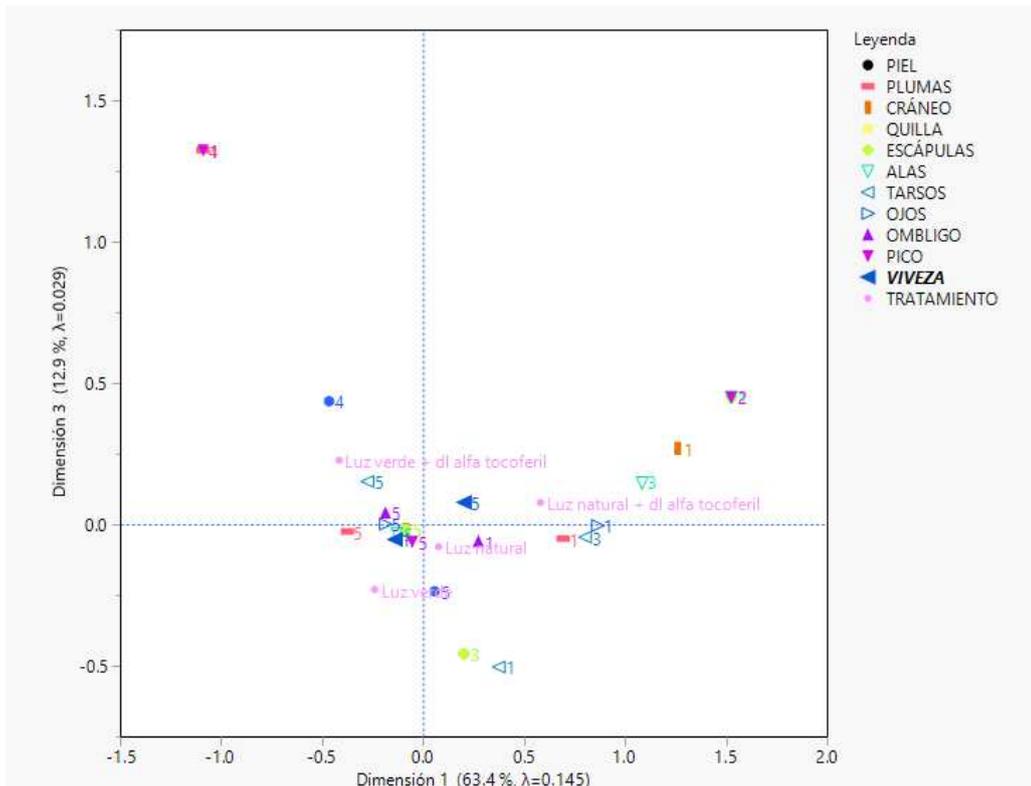


Figura 12. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos en las dimensiones 1 y 3.

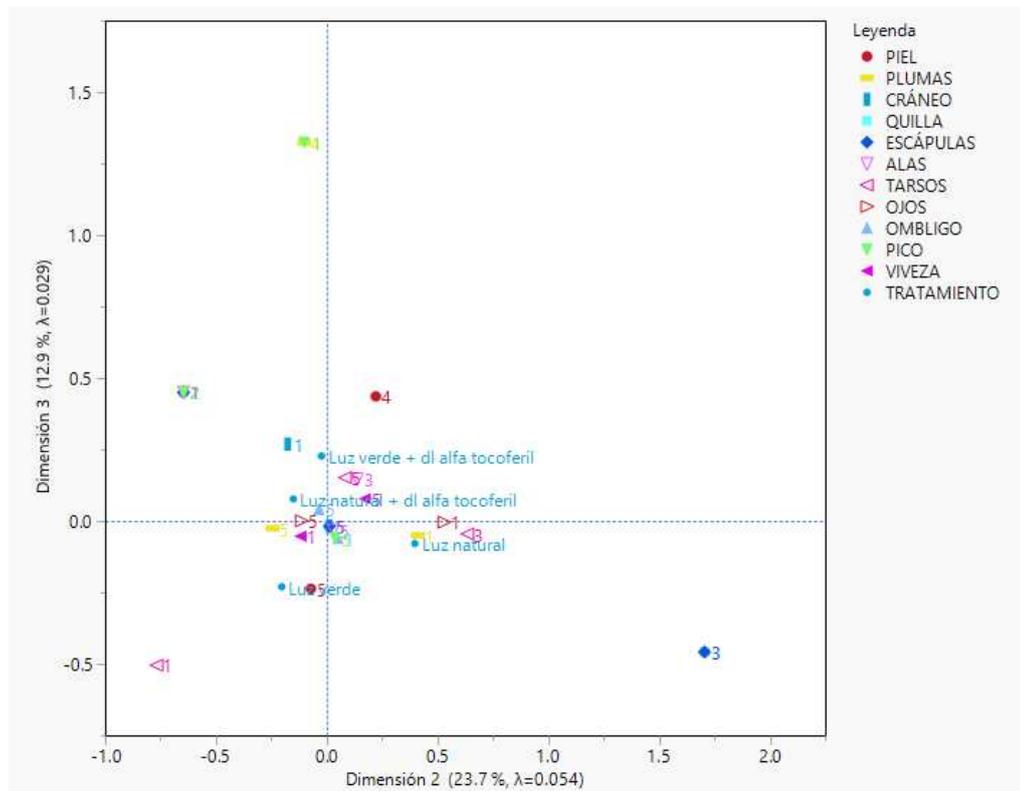


Figura 13. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos en las dimensiones 2 y 3.

Para las dimensiones 1 y 3 (Figura 12), se observa que la calidad de la piel está positivamente asociada con el efecto de los tratamientos combinados con la dl-alfa-tocoferil y negativamente afectada por la luz verde. En cuanto a la calidad de las plumas se observa una ligera asociación negativa entre los tratamientos de luz natural y luz verde, coincidiendo con el Figura 13 (dimensiones 2 y 3); asimismo se puede notar una nula relación con los tratamientos suplementados.

Para la forma del cráneo se observa una alta asociación del efecto del tratamiento de luz natural + dl-alfa-tocoferil (Figura 12) y luz verde + dl-alfa-tocoferil (Figura 13), indicando que la suplementación mejora positivamente la formación del mismo, por el contrario del efecto de la luz verde por sí sola.

En cuanto a los tarsos, la luz natural tuvo un efecto negativo en la forma y solidez de los mismos, mientras que el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil disminuyó ampliamente las deformidades en los mismos así como la prevención de sitios inflamados (Figuras 12 y 13).

Por otro lado, el tratamiento de luz natural influyó negativamente en la cicatrización del ombligo, contrario de lo observado con el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil, el cual demuestra una asociación positiva con la rápida cicatrización del mismo (Figuras 12 y 13). Asimismo, la viveza del pollito fue negativamente afectada por el tratamiento de luz verde, notando algunas de las aves decaídas, mientras que el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil mejoró el comportamiento del pollito al nacimiento.

Finalmente, cabe señalar que la forma e integridad de los ojos, pico, quilla, escápulas y alas se vieron ligeramente afectadas por todos los cuatro diferentes tratamientos, indicando que los tratamientos utilizados no influyen como tal en su proceso de formación.

## **IX. DISCUSIÓN**

### **1. Peso, longitud del pollito y longitud de los tarsos**

- **Peso**

Debido a que el tratamiento con luz verde ( $51.50 \pm 5.25$ ) tuvo un peso más elevado comparado con los otros tratamientos, es posible decir que la luz afectó positivamente en la ganancia de masa muscular de los embriones. Este efecto concuerda con lo mencionado por Rozemboim et al. (2013), pues los embriones criados bajo luz verde fluorescente tienden a mejorar notablemente la ganancia de peso en comparación con aquellos criados bajo otro tipo de color de luz u oscuridad, ya que la estimulación con luz verde en los días críticos (día 14) del desarrollo embrionario (Öskan et al., 2012), acelera el crecimiento de la masa muscular (Halevy, 2006), específicamente las células “satélite”, las cuales se mantienen estimuladas hasta los primeros 5 días de edad del pollito, permitiendo que tengan una eclosión temprana de al menos un día previo a la fecha establecida.

Por otro lado, la combinación de la luz verde + dl-alfa-tocoferil sugieren que en conjunto, pueden mejorar el desempeño de los embriones al proveer un estimulador de la masa y muscular así como una reserva extra de antioxidantes que definirán un mejor estado físico de los pollitos al nacimiento (Schaal, 2008).

- **Longitud del pollito y de los tarsos**

De acuerdo con Archer et al. (2009), la longitud del pollito, depende de la fotoestimulación que se percibe en los días críticos, ya que al estimular la glándula pineal se estimulan a su vez, otra serie de mecanismos, como las ya mencionadas células “satélite” y los genes *pax 7*, permitiendo una sobreexpresión de receptores musculares que aceleren el desarrollo del pollito disminuyendo el periodo de incubación y mejorando el tamaño de los pollitos, sucediendo esto también en las extremidades. Aunque el tamaño de las aves depende directamente de las variables genéticas y condiciones de los huevos previos a su incubación, Salary et al. (2014) mencionan que una suplementación de nutrientes exógenos en la yema de tal manera que los requerimientos nutricionales de los embriones estén completos para

su uso en la formación de órganos y huesos y que a su vez sirvan como reserva una vez eclosionados los pollitos y no existan pérdidas de peso ni afectación de los órganos internos.

## **2. Calidad del pollito al nacimiento**

De acuerdo con las clasificaciones de calidad que se realizaron de los pollitos nacidos, se pudo observar que los tratamientos con luz verde tuvieron un porcentaje alto de de primera calidad comparado con los tratamientos de luz natural. Como ya se sabe, las condiciones ambientales durante la embriogénesis del pollito son fundamentales para su bienestar y desempeño productivo visible al nacimiento. De acuerdo con Nickla y Totonelly (2016), la luz, al estimular a los fotorreceptores presentes en el ojo y la glándula pineal genera cambios en el desarrollo del sistema nervioso que afectan la salud (Zelma et al., 2016), el peso, la productividad de los pollitos al nacimiento y su comportamiento (Archer et al., 2009). Mientras que el efecto de la dl-alfa-tocoferil, tiene como efecto la disminución de radicales libres liberados al momento del picaje y durante todo el proceso de nacimiento. Como ya se mencionó anteriormente, la administración exógena de nutrientes, previo al nacimiento, se convierte en una reserva de nutrientes necesarios para su mantenimiento y crecimiento que permitirán que haya un porcentaje de viabilidad elevada durante el primer día hasta los primeros 7 días de nacimiento, comparados con aquellos que no fueron suplementados y en los cuales existe un desvío de nutrientes en el organismo afectando los parámetros de producción y de calidad de los pollitos (Chen et al., 2010). Molenaar et al. (2010) y Moghaddam et al. (2013) coinciden en que la administración de nutrientes durante la última fase de desarrollo embrionario mejora el estatus de salud tanto del embrión como del pollito.

De acuerdo a la Figura 10, se destaca que el tratamiento de luz natural + dl-alfa tocoferil tuvo un 10% más de pollitos de primera calidad debido a la suplementación de antioxidantes, los cuales permitieron a aquellos embriones que se encontraban en mala calidad o bien, habían agotado sus reservas de nutrientes, eliminar aquellos radicales libres que pudieron haber afectado el proceso de nacimiento. Si bien es cierto que se tuvo un 20% de pollitos de tercera calidad, se puede decir que la

administración de esta vitamina antioxidante redujo el porcentaje de pollitos de mala calidad (Schaal, 2008).

En cuanto al análisis de correspondencias, se observa una asociación tanto positiva como negativa entre los tratamientos y cada parámetro evaluado. Se destaca que los tratamientos suplementados con *dl*-alfa-tocoferil mejoraron la calidad de los pollitos, ya que no tuvieron efectos negativos en la formación de piel, huesos y ojos. De acuerdo con Surai et al. (2016), este efecto se debe a una correcta absorción de la vitamina en el organismo de las aves durante el último tercio de desarrollo embrionario sin generar un desvío de nutrientes de los órganos y músculos en proceso o ya formados (Singh et al., 2006).

Asimismo, en este estudio se detecta que los tratamientos no suplementados con *dl*-alfa-tocoferil, tuvieron en ciertos parámetros efectos muy negativos, como lo fue en el caso de los tarsos así como en la viveza de los pollitos. Cabe mencionar, que los pollitos criados bajo estos tratamientos no recibieron una suplementación de *dl*-alfa-tocoferil lo que de acuerdo con Sławińska et al. (2013) pudo provocar un incremento de especies reactivas y agotar las reservas de energía durante el proceso de nacimiento, en comparación con aquellos que recibieron la alimentación *in ovo* (Hossain et al., 1998) afectando su comportamiento al nacimiento (Kristensen et al., 2007). Aunque la luz verde tuvo efectos positivos en los parámetros productivos (Sławińska et al., 2013), generó respuestas no deseables al momento del picaje, ya que éste se realizó en la parte media del huevo y no en la cámara de aire, debido a un inapropiado posicionamiento durante los últimos días de incubación. De acuerdo con Archer et al. (2009), esto se debe a que la luz verde en dosis elevadas genera alteraciones en la lateralización del cerebro (Rogers et al., 1998) así como asimetrías, especialmente en los tarsos.

## **X. CONCLUSIONES**

De los resultados obtenidos en este estudio, se establece que la combinación de di-alfa tocoferil y luz verde mejoraron la calidad del pollito al nacimiento en cuanto al peso y tamaño de los pollitos, además de que no hubo presencia de deformidades en las variables de calidad medidas, incrementando el porcentaje de pollitos de primera calidad.

La estandarización de la técnica de la inyección *in ovo*, redujo el daño físico al embrión y fue de mayor precisión en la administración de nutrientes en el saco vitelino.

Por otra parte, la luz verde por sí sola tiene efectos positivos en relación con la ganancia de peso y crecimiento del pollito se refiere, sin embargo, presenta efectos no deseados en otros parámetros medibles para la calidad del pollito.

Finalmente se sugiere continuar con más estudios que, más que ser aplicables en la industria avícola, sirvan como guía para realizar más investigaciones que involucren la generación de embriones de pollo como modelos experimentales con estándares de excelente calidad y asimismo, puedan ser aplicables en embriones de importancia económica así como para la conservación de especies.

## XI. LITERATURA CITADA

- Agca, Y. (2012). Genome resource banking of biomedically important laboratory animals. *Theriogenology*, 78(8), 1653–1665.
- Akil, R., & Zakaria, A. H. (2015). Egg laying characteristics, egg weight, embryo development, hatching weight and post-hatch growth in relation to oviposition time of broiler breeders. *Animal Reproduction Science*, 156, 103–110.
- Alladi, P. A., & Wadhwa, S. (2001). Effect of prenatal auditory enrichment on developmental expression of synaptic proteins in chick brainstem auditory nuclei. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 363(3), 20.
- Aminoroaya, K., Asghar, A., Ansari-pirsaraei, Z., & Kashan, N. (2016). Effect of cyclical cold stress during embryonic development on aspects of physiological responses and HSP70 gene expression of chicks. *Journal of Thermal Biology*, 61, 50–54.
- Archer, G. S., & Mench, J. A. (2014). Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, 152, 44–51.
- Archer, G. S., Shivaprasad, H. L., & Mench, J. a. (2009). Effect of providing light during incubation on the health, productivity, and behavior of broiler chickens. *Poultry Science*, 88(1), 29–37.
- Arrieta, J. M., Díaz, A., Ávila, E., Guinzberg, R., & Piña, E. (1999). Estado oxidativo hepático y comportamiento productivo en pollos de engorda, alimentados con dos fuentes de selenio y niveles altos de vitaminas e y c.
- Bellairs, R., & Osmond, M. (2014a). Chapter 2 – Techniques. In *Atlas of Chick Development (Third Edition)* (pp. 7–14).
- Bellairs, R., & Osmond, M. (2014b). Chapter 3- Early Stages. In *Atlas of Chick Development (Third Edition)* (pp. 15–28).
- Bellairs, R., & Osmond, M. (2014c). The Hen Egg's and It's Formation. In *Atlas of Chick Development (Third Edition)* (pp. 1–6). Academic Press.
- Bennett, G., Pollak, E., Kuehn, L., & Snelling, W. (2014). Breeding: Animals. In *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (pp. 173–186).
- Bento, M., Correia, E., Tavares, A. T., Becker, J. D., & Belo, J. A. (2011). Identification of differentially expressed genes in the heart precursor cells of the chick embryo. *Gene Expression Patterns*, 11(7), 437–447.
- Berti, L., & Chacón, A. (1982). Efecto del sistema de crianza sobre el comportamiento productivo de pollos de engorde. *Ciencias Veterinarias (Venezuela)*, 11, 55–62.
- Bhanja, S., Mandal, A., & Johri, T. (2003). Standardization of injection site, needle length, embryonic age and concentration of amino acids for in ovo injection in broiler breeder eggs. *Indian Journal Poultry Science*, 39(2), 105–111.
- Blasco, A., & Toro, M. A. (2014). A short critical history of the application of genomics to animal breeding. *Livestock Science*, 166(1), 4–9.
- Boerjan, M., 2002. Programs for single stage incubation and chick quality. *Avian Poult. Biol. Rev.* 13: 237-238.
- Bulfield, G. (2000). Farm animal biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 18(1), 10–13.
- Burggren, W. W., Mueller, C. A., & Tazawa, H. (2015). Respiratory Physiology & Neurobiology Hypercapnic thresholds for embryonic acid – base metabolic compensation and hematological regulation during CO<sub>2</sub> challenges in layer and broiler chicken strains, 215, 1–12.
- Burne, T. H. J., & Rogers, L. J. (1999). Changes in olfactory responsiveness by the domestic chick after early exposure to odorants. *Animal Behaviour*, 58, 329–336.

- Carinci, P. (1974). Biochemical composition embryonic skin. *International Journal of Biochemistry*, 5, 579–583.
- Chaudhury, S., & Wadhwa, S. (2009). Prenatal auditory stimulation alters the levels of CREB mRNA, p-CREB and BDNF expression in chick hippocampus. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(6), 583–590.
- Chen, W., Xu, J., Tangara, M., & Peng, J. (2010). Effects of in ovo injecting disaccharides and alanyl-glutamine dipeptide on the energy status in duck embryos and neonates. *Animal Reproduction Science*, 122(1–2), 29–35.
- Chiba, Y., Khandoker, A. H., Nobuta, M., Moriya, K., Akiyama, R., & Tazawa, H. (2002). Development of respiratory rhythms in perinatal chick embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131(April 2001), 817–824.
- Chica HF, Dávila M (2003) Análisis técnico y económico comparativo entre la producción de pollos de engorde y gallinas ponedoras en dos granjas del municipio de Sincelejo, Departamento de Sucre. *Tesis de Licenciatura, Universidad de Sucre, Colombia*.
- Clark, J. A. M., Potter, M., & Harding, E. (2006). The welfare implications of animal breeding and breeding technologies in commercial agriculture. *Livestock Science*, 103(3), 270–281.
- Clinical Veterinary Advisory (2013). *Uropygial Gland Disease Conditions*.
- Corlett, R. T. (2016). A Bigger Toolbox: Biotechnology in Biodiversity Conservation. *Trends in Biotechnology*, 35(1), 55–65.
- Coronel, J. A. (2014). *Evaluación de dos tipos de sistemas de producción (piso y jaula) de pollos broiler, en el sector de San Cayetano Bajo, Parroquia El Valle, Cantón Loja*. Universidad Nacional de Loja.
- Cortázar, J. (2008). Aspecto- Calidad del pollito recién nacido. *Incubación*, 1–6.
- Cowap, Jane. 1985. "The First Appearance of Endocrine Ceils in the Splenic Embryonic Chick Pancreas '." *General and Comparative Endocrinology* 60: 131–37.
- Cui, C., Chevront, T. J., Lansford, R. D., Moreno-Rodriguez, R. A., Schultheiss, T. M., & Rongish, B. J. (2009). Dynamic positional fate map of the primary heart-forming region. *Developmental Biology*, 332(2), 212–222.
- Cynober, Luc et al. 1985. "Insulin-like Growth Factor I / Somatomedin C Action on 2-Deoxyglucose and c -Amino Isobutyrate Uptake in Chick Embryo Fibroblasts ." *Biochimie* 67: 1185–90.
- El-magd, M. A., Sayed-ahmed, A., Awad, A., & Shukry, M. (2014). Acta Histochemica Regulation of chick early B-cell factor-1 gene expression in feather development. *Acta Histochemica*, 116(4), 577–582.
- El-tarabany, M. S. (2016). Effect of thermal stress on fertility and egg quality of Japanese quail. *Journal of Thermal Biology*, 61, 38–43.
- Faber, D. C., Molina, J. A., Ohlrichs, C. L., Vander Zwaag, D. F., & Ferr??, L. B. (2003). Commercialization of animal biotechnology. *Theriogenology*, 59(1), 125–138.
- Febles, C., Soto, C., Saldaña, A., & García, B. (2002). Funciones de la *DI-alfa tocoferol*: Actualización. *Revista Cubana de Estomatología*, 40(1), 28–32.
- Fontana, I., Tullo, E., Butterworth, A., & Guarino, M. (2015). An innovative approach to predict the growth in intensive poultry farming. *Computers and Electronics in Agriculture*, 119, 178–183.
- Gangadoo, S., Stanley, D., Hughes, R. J., Moore, R. J., & Chapman, J. (2016). Nanoparticles in feed: Progress and prospects in poultry research. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 115–126.
- Giannaccini, M., Cuschieri, A., Dente, L., & Raffa, V. (2014). Non-mammalian vertebrate embryos as models in nanomedicine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 10(4), 703–719.

- Gilani, A. M., Knowles, T. G., & Nicol, C. J. (2012). The effect of dark brooders on feather pecking on commercial farms. *Applied Animal Behaviour Science*, *142*(1–2), 42–50.
- Goodall, N., Kisiswa, L., Prashar, A., Faulkner, S., Tokarczuk, P., Singh, K., ... Wride, M. A. (2009). 3-Dimensional modelling of chick embryo eye development and growth using high resolution magnetic resonance imaging. *Experimental Eye Research*, *89*(4), 511–521.
- Graeub, B. E., Chappell, M. J., Wittman, H., Ledermann, S., Kerr, R. B., & Gemmill-Herren, B. (2016). The State of Family Farms in the World. *World Development*, *87*, 1–15.
- Halevy, O., Biran, I., & Rozenboim, I. (1998). Various light source treatments affect body and skeletal muscle growth by affecting skeletal muscle satellite cell proliferation in broilers. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, *120*, 317–323.
- Halevy, O., Piestun, Y., Rozenboim, I., & Yablonka-Reuveni, Z. (2006). In ovo exposure to monochromatic green light promotes skeletal muscle cell proliferation and affects myofiber growth in posthatch chicks. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, *290*, R1062–R1070.
- Haller, S., Ametamey, S. M., Schibli, R., & Müller, C. (2015). Investigation of the chick embryo as a potential alternative to the mouse for evaluation of radiopharmaceuticals. *Nuclear Medicine and Biology*, *42*(3), 226–233.
- Harnal, V. K., Wildt, D. E., Bird, D. M., Monfort, S. L., & Ballou, J. D. (2002). Computer simulations to determine the efficacy of different genome resource banking strategies for maintaining genetic diversity. *Cryobiology*, *44*(2), 122–131.
- Heidari, M. D., Omid, M., & Akram, A. (2011). Energy efficiency and econometric analysis of broiler production farms. *Energy*, *36*(11), 6536–6541.
- Hillier, L. W., Miller, W., Birney, E., Warren, W., Hardison, R. C., Ponting, C. P., ... Wilson, R. K. (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, *432*(7018), 695–716.
- Hogg, D., & Hosseini, A. (1992). Mini review the effects of paralysis on skeletal development in the chick embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, *103*(1962).
- Hossain, S. M., Barreto, S. L., Bertechini, A. G., Rios, A. M., & Silva, C. G. (1998). Influence of dietary Vitamin E level on egg production of broiler breeders, and on the growth and immune response of progeny in comparison with the progeny from eggs injected with Vitamin E. *Animal Feed Science and Technology*, *73*, 307–317.
- Hui-fang, L. I., Jing-ting, S. H. U., Yan-ju, S., Wen-feng, C., Chi, S., & Wen-juan, X. U. (2016). Myofiber development during embryonic to neonatal development in duck breeds differing in muscle growth rates. *Journal of Integrative Agriculture*, *15*(2), 403–413.
- Ibrahem, M., Sabry, E., Yalç, S., & İ, G. T.-. (2013). Interaction between breeder age and hatching time affects intestine development and broiler performance. *Livestock Science*, *157*, 612–617.
- Igarashi, S. J., Demorestt, D. L., & Lauber, J. K. (1981). Changes in fluorescence spectra during early development of chick embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, *69*(B), 157–167.
- Instituto de Estudios del Huevo (INA) (2009) Tomado de: [www.institutohuevo.com/](http://www.institutohuevo.com/)
- Johnson, A. L. (2015). 28- Reproduction in the Female. In *Sturkies Avian Physiology* (Sixth Edit, pp. 635–665).
- Jung S, Kim DH, Son JH, Nam K, Ahn DU, J. C. (2012). The functional property of egg yolk phosvitin as a melanogenesis inhibitor. *Food Chemistry*, *135*(3), 993–998.
- Kalinka, A. T., & Tomancak, P. (2012). The evolution of early animal embryos: Conservation or divergence? *Trends in Ecology and Evolution*, *27*(7), 385–393.
- Kermanshahi, H., Daneshmand, A., Emami, N. K., & Tabari, D. G. (2015). Research in Veterinary Science Effect

- of in ovo injection of threonine on Mucin2 gene expression and digestive enzyme activity in Japanese quail ( *Coturnix japonica* ). *Research in Veterinary Science*, 100, 257–262.
- Kiecker, C. (2016). The chick embryo as a model for the effects of prenatal exposure to alcohol on craniofacial development. *Developmental Biology*, 415(2), 314–325.
- Kochhar, H. P. S., & Evans, B. R. (2007). Current status of regulating biotechnology-derived animals in Canada-animal health and food safety considerations. *Theriogenology*, 67(1), 188–197.
- Kristensen, H. H., Prescott, N. B., Perry, G. C., Ladewig, J., Ersbøll, A. K., Overvad, K. C., & Wathes, C. M. (2007). The behaviour of broiler chickens in different light sources and illuminances. *Applied Animal Behaviour Science*, 103, 75–89.
- Kumar, V., Nag, T. C., Sharma, U., Jagannathan, N. R., & Wadhwa, S. (2014). Differential effects of prenatal chronic high-decibel noise and music exposure on the excitatory and inhibitory synaptic components of the auditory cortex analog in developing chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Neuroscience*, 269, 302–317.
- Kues, W. A., & Niemann, H. (2004a). The contribution of farm animals to human health. *Trends in Biotechnology*, 22(6), 286–294.
- Kues, W. A., & Niemann, H. (2011b). Advances in farm animal transgenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102(2), 146–156.
- Lassen, J., Gjerris, M., & Sandøe, P. (2006). After Dolly - Ethical limits to the use of biotechnology on farm animals. *Theriogenology*, 65(5 SPEC. ISS.), 992–1004.
- Lee, D. H., Park, S., Kim, E. Y., Kim, S. K., Chung, Y. N., Cho, B. K., ... Wang, K. C. (2004). Enhancement of re-closure capacity by the intra-amniotic injection of human embryonic stem cells in surgically induced spinal open neural tube defects in chick embryos. *Neuroscience Letters*, 364(2), 98–100.
- Liu, H., Liu, J., Yan, X., Li, Q., Zhao, Y., Wang, Y., ... Wang, J. (2015). Impact of thermal stress during incubation on gene expression in embryonic muscle of Peking ducks ( *Anas platyrhynchos domestica* ). *Journal of Thermal Biology*, 53, 80–89.
- Mara, L., Casu, S., Carta, A., & Dattena, M. (2013). Cryobanking of farm animal gametes and embryos as a means of conserving livestock genetics. *Animal Reproduction Science*, 138(1–2), 25–38.
- Martínez-Madrid, B., Donnez, J., Van Eyck, A.-S., Veiga-Lopez, A., Dolmans, M.-M., & Van Langendonck, A. (2009). Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) model: a useful tool to study short-term transplation of cryopreserved human ovarian tissue. *Fertility and Sterility*, 91(1), 285–292.
- McCormack, J. E., Maley, J. M., Hird, S. M., Derryberry, E. P., Graves, G. R., & Brumfield, R. T. (2012). Next-generation sequencing reveals phylogeographic structure and a species tree for recent bird divergences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 397–406.
- Mendizabal, Rosa Isela, Pablo G Matzumura, Claudia Haydee Gonzáles, and José Antonio Herrera. 2016. "Efecto Combinado de Atra Y Faslodex Sobre La Inhibición de La Metástasis de Células de Carcinoma Mamario Humano En Un Modelo de Embrión de Pollo."
- Metz, C. (1978). Chapter 5: Sperm and Egg Receptors Involved in Fertilization. In *Current Topics in Developmental Biology* (pp. 107–147).
- Miller, H. I. (2007). Food from cloned animals is part of our brave old world. *Trends in Biotechnology*, 25(5), 201–203.
- Minoprio, J. L. (2008). El Desarrollo embrionario del pejerrey. *Incubación*, 12.
- Moghaddam, A., Karimi, I., Borji, M., & Bahadori, S. (2013). Effect of royal jelly in ovo injection on embryonic growth, hatchability, and gonadotropin levels of pullet breeder chicks. *Theriogenology*, 80(3), 193–198.
- Molenaar, R., Reijrink, I., Meijerhof, R., & Van den Brand, H. (2010). Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation : A Review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12(3), 137–148.

- Monath, T. P. (2013). Vaccines against diseases transmitted from animals to humans: A one health paradigm. *Vaccine*, 31(46), 5321–5338.
- Moraes, V. M. B., Malheiros, R. D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., As, P. Van, ... Macari, M. (2003). Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 28, 133–140.
- Moran, E. T. (2007). Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 86(5), 1043–1049.
- Mortola, J. P. (2009). Gas exchange in avian embryos and hatchlings. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 153(4), 359–377.
- Nassar, M., Halle, I., Plagemann, A., & Tzschentke, B. (2015). Comparative Biochemistry and Physiology , Part A Detection of long-term influence of prenatal temperature stimulation on hypothalamic type-II iodothyronine deiodinase in juvenile female broiler chickens using a novel immunohistochemical amplification. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 179, 120–124.
- Newberry, R. C., Hunt, J. R., & Gardiner, E. E. (1988). Influence of light intensity on behavior and performance of broiler chickens. *Poultry Science*, 67, 1020–1025.
- Nickla, D. L., & Totonelly, K. (2016). Brief light exposure at night disrupts the circadian rhythms in eye growth and choroidal thickness in chicks. *Experimental Eye Research*, 146, 189–195.
- Nys, Y., & Guyot, N. (2011). 6- Egg formation and chemistry. In *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products* (pp. 83–132).
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2009a) Tomado de: [www.fao.org/home/es/](http://www.fao.org/home/es/)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2016b) Tomado de: [www.fao.org/home/es/](http://www.fao.org/home/es/)
- Otte, J., Roland-Holst, D., Pfeiffer, D., Soares-Magalhaes, R., Rushton, J., Graham, J., & Silbergeld, E. (2007). Industrial Livestock Production and Global Health Risks. *Animal Production*, (June), 1–21.
- Özkan, S., Yalçın, S., Babacano, E., Kozano, H., Karada, F., & Uysal, S. (2012). Photoperiodic lighting (16 hours of light : 8 hours of dark) programs during incubation : 1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. *Poultry Science*, 91, 2912–2921.
- Palmquist-Gomes, P., Guadix, J. A., & Perez-Pomares, J. M. (2016). A chick embryo cryoinjury model for the study of embryonic organ development and repair. *Differentiation*, 91(4–5), 72–77.
- Pérez, H. (1997). *Física General*. (H. P. Montiel, Ed.) (7th ed.). Publicaciones Cultural.
- Piestun, Y., Halevy, O., Shinder, D., Ruzal, M., Druyan, S., & Yahav, S. (2011). Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions \$. *Journal of Thermal Biology*, 36(7), 469–474.
- Porter, R. H., Hepper, P. G., Bouchot, C., & Picard, M. (1999). A simple method for testing odor detection and discrimination in chicks. *Physiology and Behavior*, 67(3), 459–462.
- Quintana, J. A. (2006). *Avitecnia: Manejo de las aves más comunes* (3ra. Edici). Trillas.
- Quintana, J. A. (2016). *Incubatecnia*. BM Editores.
- Rall, W. (1992). Cryopreservation of oocytes and embryos: methods and applications. *Animal Reproduction Science*, 28(1–4), 237–245.
- Ramírez, E. J., Muñoz, M. F. C., Herrera, A. C., & Vergara, O. D. (2009). Efecto de la temperatura y el volteo durante el almacenamiento sobre la calidad del huevo comercial. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22, 642–647.

- Revidatti, R. J., Rafart, F. A., & Jose, F. (2003). Parámetros productivos en reproductoras de huevos y carne tipo INTA. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 11–13.
- Rexroad, C. E., Green, R. D., & Wall, R. J. (2007). Regulation of animal biotechnology: Research needs. *Theriogenology*, 68(SUPPL. 1), 3–8.
- Ribatti, D. (2016). The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mechanisms of Development*, 141, 70–77.
- Rogers, L. J., Andrew, R. J., & Burne, T. H. J. (1998). Light exposure of the embryo and development of behavioural lateralisation in chicks , I: olfactory responses. *Behavioural Brain Research*, 97, 195–200.
- Roldán, J., Pardo, N., Durán, L., Martínez, H., & Durán, F. (2006). Producción avícola a la intemperie. In *Volvamos al campo: Manual de Explotación en Aves de Corral* (pp. 524–561). Editorial Grupo Latino.
- Romanini, C. E. B., Exadaktylos, V., Hong, S. W., Tong, Q., McGonnell, I., Demmers, T. G. M., ... Berckmans, D. (2015). An insight into the heat and mass transfer mechanisms of eggshells hatching broiler chicks and its effects to the hatcher environment. *Journal of Thermal Biology*, 48, 69–76.
- Rozenboim, I., Halawani, M. E. El, Kashash, Y., Piestun, Y., & Halevy, O. (2013). General and Comparative Endocrinology The effect of monochromatic photostimulation on growth and development of broiler birds. *General and Comparative Endocrinology*, 190, 214–219.
- Rymer, J., Choh, V., Bharadwaj, S., Padmanabhan, V., Modilevsky, L., Jovanovich, E., ... Wildsoet, C. F. (2007). The albino chick as a model for studying ocular developmental anomalies , including refractive errors , associated with albinism. *Experimental Eye Research*, 85, 431–442.
- Salary, J., Sahebi-Ala, F., Kalantar, M., & Matin, H. R. H. (2014). In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(Suppl 2), S616–S619.
- Schaal, T. P. (2008). *The effect of in ovo feeding of fatty acids and antioxidants on broiler chicken hatchability and chicken tissue lipids*.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA (2009) Tomado de: <http://www.gob.mx/sagarpa>
- Scott, G. (2006). Desarrollo temprano en las aves. In *Biología del Desarrollo*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Singh, H., S, S., & Kaur, R. (2006). Effects of dietary supplements of Selenium, Vitamin E or combinatins of two on antibody responses of broilers. *British Poultry Science*, 47, 714–719.
- Smit, L. De, Bruggeman, V., Tona, J. K., Debonne, M., Onagbesan, O., Arckens, L., ... Decuypere, E. (2006). Embryonic developmental plasticity of the chick: Increased CO<sub>2</sub> during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 145, 166–175.
- Sneddon, H., Hadden, R., & Hepper, P. G. (1998). Chemosensory learning in the chicken embryo. *Physiology and Behavior*, 64(2), 133–139.
- Soler, M. (2008). Do hosts of interspecific brood parasites feed parasitic chicks with lower-quality prey? *Animal Behaviour*, 76(5), 1761–1763.
- Ssematimba, A., Hagensars, T. J., de Wit, J. J., Ruitkamp, F., Fabri, T. H., Stegeman, J. A., & de Jong, M. C. M. (2013). Avian influenza transmission risks: Analysis of biosecurity measures and contact structure in Dutch poultry farming. *Preventive Veterinary Medicine*, 109(1–2), 106–115.
- Surai, P. F., Fisinin, V. I., & Karadas, F. (2016). Antioxidant Systems in Chick Embryo Development. Part 1. Vitamin E, Carotenoids and Selenium. *Animal Nutrition*, (JANUARY).

- Tjorve, K. M. C., & Tjorve, E. (2010). Shapes and functions of bird-growth models: How to characterise chick postnatal growth. *Zoology*, *113*(6), 326–333.
- Tona, K., Bamelis, F., De Ketaleare, B., Bruggeman, V., Moraes, V. M. B., Buyse, J., ... Decuyper, E. (2003a). Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality and chick juvenile growth. *Poultry Science*, *82*, 736–741.
- Tona, K., Onagbesan, O., & Bruggeman, V. (2007b). Non-ventilation during early incubation in combination with dexamethasone administration during late incubation: 1. Effects on physiological hormone levels, incubation duration and hatching events. *Domestic Animal Endocrinology*, *33*, 32–46.
- Torre-Marina, M. C. (2012). *El huevo: mitos, realidades y beneficios*. Trillas.
- Unión Nacional de Avicultores (UNA) (2016) Tomado de: <http://una.org.mx>
- United States Department of Agriculture (USDA) (2015) Tomado de: <https://www.usda.gov/>
- Valdivié, M., & Dieppa, O. (2002). Producción de peso vivo de aves. *Revista Cuabana de Ciencia Agrícola*, *36*(2), 131–135.
- Van Boeckel, T. P., Thanapongtharm, W., Robinson, T., D'Aiotti, L., & Gilbert, M. (2012). Predicting the distribution of intensive poultry farming in Thailand. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *149*, 144–153.
- Van Mierlo, B., Janssen, A., Leenstra, F., & Van Weeghel, E. (2013). Encouraging system learning in two poultry subsectors. *Agricultural Systems*, *115*, 29–40.
- Vargas, A., Zeisser-Labouèbe, M., Lange, N., Gurny, R., & Delie, F. (2007). The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the in vivo evaluation of drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *59*(11), 1162–1176.
- Vázquez, J. L., Prado, O. F., García, L. J., & Juárez, M. A. (2006). Edad de la reproductora sobre la incubabilidad y tiempo de nacimiento del pollo de engorda. *Avances En Investigación Agropecuaria*, *10*(1), 21–28.
- Vilela, J. M. V., Leonel, E. C. R., D'Oliveira, L., Paiva, R. E. G., Miranda-Vilela, A. L., Amorim, C. A., ... Lucci, C. M. (2016). Culture of domestic cat ovarian tissue *in vitro* and in the chick embryo chorioallantoic membrane. *Theriogenology*, *86*(7), 1774–1781.
- Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Tharian, J. A., Shanmugam, M., & Rajkumar, U. (2015). Effect of thermal manipulation during embryogenesis on liver heat shock protein expression in chronic heat stressed colored broiler chickens. *Journal of Thermal Biology*, *53*, 162–171.
- Wang, X., Wu, S., Zhang, H., Yue, H., & Qi, G. (2015). Effect of dietary protein sources and storage temperatures on egg internal quality of stored shell eggs. *Animal Nutrition*, *1*(4), 299–304.
- Wild, Anthea et al. 2001. "Somatostatin Immunoreactivity Demonstrated of Very Young Chick Embryos." *General and Comparative Endocrinology* *373*(1979): 370–73.
- Willemsen, H., Kamers, B., Dahlke, F., Han, H., Song, Z., Ansari, P., ... Everaert, N. (2010). High- and low-temperature manipulation during late incubation: effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poultry Science*, *89*(12), 2678–2690.
- Wondmeneh, E., Van der Waaij, E. H., Udo, H. M. J., Tadelle, D., & Van Arendonk, J. A. M. (2016). Comparison of different poultry breeds under station and on-farm conditions in Ethiopia. *Livestock Science*, *183*, 72–77.
- Yalçın, S., Çabuk, M., Bruggeman, V., Babacaonoglu, E., Buyse, J., Decuyper, E., & Siegel, P. (2008). Acclimation to heat during incubation: 3. Body weight, cloacal temperatures, and blood acid-base balance in broilers exposed to daily high temperatures. *Poultry Science*, *87*, 2671–2677.
- Yahav, S., Rath, R. S., & Shinder, D. (2004). The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch. *Journal of*

*Thermal Biology*, 29(4–5), 245–250.

Ying, Y., Chun-yan, H., Tabassum, C. M., Ling, L., Jia-ying, Y., Sheng-nan, W., & Jia-xin, Y. (2015). Effect of Quercetin on Egg Quality and Components in Laying Hens of Different Weeks. *Journal of Northeast Agricultural University*, 22(4), 23–32.

Zambrowicz, A., Dąbrowska, A., Bobak, Ł., & Szoltyś, M. (2014). Egg yolk proteins and peptides with biological activity. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej*, 68, 1524–1529.

Zeman, M., Mackova, M., & Griac, P. (2001). Rhythms of the pineal N -acetyltransferase mRNA and melatonin concentrations during embryonic and post-embryonic development in chicken, 298, 123–126.

**MANUSCRITO PRODUCTO DE ESTA TESIS,  
PARA SU ENVÍO A PUBLICACIÓN:  
BRITISH POULTRY SCIENCE JOURNAL**

**Work title:** Effect of light and supplementation with dl-alpha tocopheryl on embryo development and chick birth quality.

**Título del trabajo:** Efecto de la luz y suplementación con dl-alfa tocoferil en el desarrollo embrionario y calidad al nacimiento del pollito.

**Autores:**

1. Rocio Azhzil López Zárate<sup>1</sup>
2. José Antonio Herrera Barragán<sup>2</sup>
3. Alejandro Ávalos Rodríguez<sup>2</sup>
4. Ricardo Ruiz Sánchez<sup>2</sup>
5. Ricardo Camarillo Flores<sup>3</sup>
6. Ana Karen Vargas Ibarra<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Maestría en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, C.P. 04960, México.

<sup>2</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, C.P. 04960, México.

<sup>3</sup> Maestría en Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, 09430, México.

**Autor de correspondencia:** [jherrerab@correo.uam.xoc.mx](mailto:jherrerab@correo.uam.xoc.mx)

# **EFFECTO DE LA LUZ Y SUPLEMENTACIÓN CON dl-alfa tocoferil EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y CALIDAD AL NACIMIENTO DEL POLLITO**

## **Resumen**

El presente estudio se realizó con la finalidad de suplementar dl-alfa tocoferil en combinación con luz verde monocromática para conocer el efecto que tiene sobre el desarrollo embrionario del pollito y la calidad del mismo al nacimiento. Se trabajó con 80 embriones de la línea genética Bovans White con los cuales se formaron 4 tratamientos: 1) Control (Luz natural), 2) Luz natural + dl-alfa tocoferol, 3) Luz verde y 4) Luz verde + dl-alfa tocoferol. La luz verde se colocó a partir del día 7 de desarrollo embrionario hasta el día 19. La inyección in ovo, dl-alfa tocoferil (Eternal®) se aplicó en el saco vitelino, el día 14 de incubación. Al nacimiento, se evaluaró peso; longitud del pollito y de los tarsos; color y calidad de la piel; calidad de las plumas: forma del cráneo, pico, quilla, escápula, alas y tarsos; calidad de ojos; cicatrización de ombligo y; viveza del pollito. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple entre medias con una T de Student ( $p < 0.05$ ) para las variables de peso, longitud del pollito y de los tarsos. Para las variables de respuesta de calidad del pollito al nacimiento se realizó un análisis de correspondencias múltiples. En los resultados obtenidos se observó que el efecto de la luz verde y su combinación con dl-alfa-tocoferil mejoraron la calidad de los pollitos, incrementando la calidad de los pollitos nacidos. Los resultados pueden ser aplicados a investigaciones que involucren la generación de embriones de pollo como modelos experimentales con estándares de excelente calidad y en embriones de importancia económica así como para la conservación de especies.

**Palabras clave:** Incubación, calidad, vitamina E, luz, eclosión.

## Introducción

La importancia de producción de embriones de pollo de alta calidad, no sólo se relaciona con el aspecto alimentario a nivel mundial y nacional, sino que también concierne al aspecto de nutrición animal, mejoramiento sanitario, resistencia a enfermedades, productividad, desarrollo de nuevas tecnologías, como la genómica, generación de bancos genómicos y preservación de especies en cautiverio (Kalinka y Tomancak, 2012). Dado que el uso de modelos de mamíferos no es bien visto por los aspectos éticos y por la gran labor que se requiere al momento de hacer vivisecciones (Giannaccini *et al.*, 2014), la manipulación *in ovo* es una herramienta fácil de utilizar que no afecta la viabilidad de los organismos, necesaria para la obtención de características especiales por la edad del embrión o por el desarrollo de órganos (Palmquist-Gomes *et al.*, 2016).

Durante el picaje y la eclosión del pollito se demanda una gran cantidad de nutrientes que sirven como combustible durante las siguientes 24 horas post-eclosión. Para esto las aves se alimentan de los residuos del saco vitelino que aporta nutrientes para proveer energía. Sin embargo, este alimento no parece ser suficiente para cumplir con los requerimientos nutricionales provocando la movilización de nutrientes, para proveer energía causando pérdidas de peso corporal en la parvada (Chen *et al.*, 2010). La alimentación *in ovo* con dl-alfa tocoferil en el saco amniótico, permite evitar las pérdidas de peso durante el desarrollo embrionario, incrementar el porcentaje de viabilidad y mejorar la calidad del pollito al nacimiento (Moghaddam *et al.*, 2013). Así como los tratamientos nutricionales, la modificación a las condiciones ambientales experimentales, la aplicación de luz verde monocromática tiene un rol en las actividades biológicas y está asociada con la aceleración del desarrollo embrionario (Rozemboim *et al.*, 2013) y el nacimiento pronto de los pollos (Archer y Mench, 2014) ya que estimula los fotorreceptores retinales o pineales, al sistema endocrino y músculos. Este proceso tiene mayor eficacia durante los días críticos de incubación (días 3, 7, 14 y 19) (Moraes *et al.*, 2003; Özkan *et al.*, 2012) ya que provoca cambios perinatales epigenéticos en las funciones del cuerpo (impronta de las funciones del cuerpo) (Nassar *et al.*, 2015). Al nacimiento, es posible evaluar la calidad de los mismos por medio de parámetros físicos, inmunológicos, fisiológicos y

locomotores positivos desarrollados durante el crecimiento del embrión que son indicadores de parámetros productivos (viabilidad, ganancia de peso, producción de carne y huevo) y anatómicos- fisiológicos de interés para y áreas de investigación (Quintana, 2016).

Dicho esto, es posible mencionar que el efecto de la luz verde, incrementará el metabolismo de la dl-alfa tocoferil suplementada en el vitelo embrionario, por lo cual se obtendrán pollitos con mejor desarrollo de los órganos, lo cual se reflejará en un mayor desarrollo musculo esquelético de los pollitos. Por lo cual, el objetivo de este estudio fue conocer el efecto que tiene la suplementación de dl-alfa tocoferil en combinación con la luz verde monocromática sobre el desarrollo embrionario del pollito y la calidad del mismo al nacimiento.

## **Material y Métodos**

### **1. Material Biológico.**

Se trabajó con 80 embriones de la línea genética Bovans White con 4 días de almacenamiento y provenientes de reproductoras con un ciclo de reproducción de 22 semanas de edad, con los cuales se formaron 4 tratamientos: 1) Control (Luz natural), 2) Luz natural + dl-alfa tocoferil, 3) Luz verde y 4) Luz verde + dl-alfa tocoferil. Los huevos obtenidos se desinfectaron con Yodo al 8% (Isodine), se ovoscopiaron y se evaluaron de acuerdo a la calidad del cascarón (textura, color, forma) para seleccionar los incubables de los no incubables.

Los embriones se incubaron bajo las mismas condiciones ambientales: temperatura 37.7°C, humedad 60%, ventilación 14 cm<sup>3</sup>/min y volteo cada 90 minutos.

### **2. Luz Verde**

Para la luz verde se utilizaron dos focos LED color verde marca Ecosmart™ de 5 watts, correspondientes a 5 lux (Halevy *et al.*, 1998a). Estos se colocaron en la incubadora en la parte superior de la misma, de tal manera que la luz se distribuyera en toda la

incubadora. La luz se colocó a partir del día 7 de desarrollo embrionario hasta el día 20 con un fotoperiodo 14 Luz: 10 Oscuridad.

### **3. Dl-alfa tocoferil**

Se utilizaron cápsulas de dl-alfa tocoferol (Eternal®) que contienen Acetato de *dl*-alfa tocoferil de 400mg, equivalentes a 400 U. I. dl-alfa tocoferol. La inyección se aplicó en el día 14 de incubación. Se utilizaron jeringas desechables con aguja de insulina de un grosor de 25mm (Salary *et al.*, 2014) y la inyección se aplicó en el saco vitelino (Bhanja *et al.*, 2003).

#### ***Inyección in ovo***

Se estandarizó una técnica que dividiera la mitad del huevo con una línea imaginaria, de tal manera que, el embrión quedará en la parte superior del huevo y el saco vitelino en la parte inferior. Con la aguja de la jeringa, se perforó cuidadosamente la parte inferior del huevo y se aplicó el dl-alfa tocoferil. Para finalizar, se selló el orificio con una gota de Resistol blanco. El tiempo máximo para este procedimiento fue de 40 seg/huevo.

### **4. Parámetros de calidad del pollito al nacimiento**

Posteriormente de haber nacido el pollito, se evaluaron las siguientes características: peso (con una báscula digital); longitud del pollito (con un Vernier se midió la longitud del pollito, desde el pico hasta la punta de los dedos) y; longitud de los tarsos (con el mismo Vernier, se midió el tarso derecho, desde el fémur hasta la punta de los dedos). Además, se observó el color de la piel, calidad de las plumas, forma del cráneo, pico, quilla, escápula, alas, tarsos, ojos, cicatrización del ombligo y viveza del pollito. Una vez clasificadas las variables observadas, se procedió a calificar con el puntaje asignado a cada criterio evaluado en los pollitos recién nacidos.

Una vez obtenidos todos los puntajes se procedió a realizar la sumatoria de todos los criterios para así, poderlos clasificar en 3 tipos de calidades (Boerjan, 2002): primera calidad (sumatoria de <110 pts.) = 100-66.66%; segunda calidad (sumatoria de <100 pts.) = 66-33.33% y; tercera calidad (sumatoria de <50 pts.) = 33-0%.

## 5. Análisis estadístico

Se realizó, para cada una de las variables de peso al nacimiento, longitud del pollito y de los tarsos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba estadística de T de *Student* para la comparación entre medias ( $p < 0.05$ ).

Para las variables de respuesta: color de la piel, calidad de las plumas, forma del cráneo, pico, quilla, escápula, alas y tarsos, forma de los ojos, limpieza del ombligo y viveza del pollito, primeramente se realizó la clasificación de los pollitos de acuerdo a las calidades mencionadas y posteriormente se realizó un análisis de correspondencias múltiples para conocer la relación entre las variables y los tratamientos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Peso, longitud del pollito y longitud de tarsos

La comparación de las variables de peso al nacimiento, longitud del pollito y de los tarsos entre los tratamientos se observa en el Cuadro 1.

- **Peso**

**Cuadro 1. Peso al nacimiento, longitud de pollitos y longitud de tarsos.**

Tratamiento	Peso (g)	Longitud del pollito (cm)	Longitud de tarsos (cm)
	$\bar{X} \pm D.E.$	$\bar{X} \pm D.E.$	$\bar{X} \pm D.E.$
Luz natural	39.91±6.41 <sup>a</sup>	10.55±1.78 <sup>a</sup>	2.85±0.56 <sup>a</sup>
Luz natural + dl-alfa-tocoferil	38.00±4.44 <sup>a</sup>	10.75±0.75 <sup>a</sup>	2.75±0.42 <sup>a</sup>
Luz verde	51.50±5.25 <sup>b</sup>	10.19±1.72 <sup>a</sup>	2.23±0.75 <sup>b</sup>
Luz verde + dl-alfa-tocoferil	45.90±6.40 <sup>c</sup>	10.99±1.41 <sup>a</sup>	2.19±0.61 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferente literal son estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).  
n=20 embriones por tratamiento.

Estos resultados destacan que los pollitos nacidos del tratamiento de luz verde y luz verde + dl-alfa-tocoferil, tuvieron una ganancia de peso significativa ( $P < 0.05$ ) en comparación

con los demás tratamientos. No se observan diferencias significativas entre los tratamientos de luz natural y luz natural + dl-alfa-tocoferil (Cuadro 1).

- **Longitud del pollito y longitud de tarsos**

En cuanto a la longitud del pollito no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, se puede destacar que los tratamientos suplementados con dl-alfa-tocoferil tuvieron una longitud promedio más elevada en comparación con aquellos que no fueron suplementados. Cabe señalar, que la combinación de la luz verde con la dl-alfa-tocoferil aumentó la longitud de los pollitos recién nacidos. Sin embargo, los resultados obtenidos para la longitud de los tarsos, muestran diferencias significativas entre los dos tratamientos de luz natural comparados con los de luz verde, siendo los primeros dos tratamientos, los que mayor longitud de tarsos obtuvieron (Cuadro 1).

## **2. Calidad del pollito al nacimiento**

Al realizar la clasificación de los pollitos de acuerdo a los criterios evaluados, se observó un porcentaje elevado de pollitos de primera calidad en comparación con los de luz natural, siendo la combinación de la luz verde + dl-alfa-tocoferil el que obtuvo 100% de pollitos de primera calidad, mientras que el tratamiento de luz verde obtuvo un 95% de pollitos de primera calidad y un 5% de pollitos de segunda calidad. Ninguno de los dos presentó pollitos de tercera calidad. En cuanto a los tratamientos de luz natural, se observó que el tratamiento de luz natural + dl-alfa-tocoferil, a pesar de que presentó porcentajes en las 3 diferentes calidades de los pollitos evaluados, resaltó un índice aceptable de pollitos de primera calidad comparado con el de luz natural. Sin embargo, el tratamiento de luz natural no presentó pollitos de tercera calidad como el tratamiento combinado con la dl-alfa-tocoferil.

Por otro lado, el análisis de correspondencias explicó la dispersión de los datos respecto a los tratamientos evaluados, debido a la inercia de los datos, por lo que se observó que las variables estaban más dispersas de los tratamientos luz natural + dl-alfa-tocoferil (0.40570) y luz verde + dl-alfa-tocoferil (0.24810), mientras que los tratamientos de luz verde (0.16757) y luz natural (0.17864), tuvieron mayor efecto en las variables evaluadas.

Dicho esto, se compararon estos resultados con las figuras obtenidas en el mismo análisis, los cuales nos indican las variables afectadas por los diferentes tratamientos.

Para las dimensiones 1 y 3, se observa que la calidad de la piel está positivamente asociada con el efecto de los tratamientos combinados con la dl-alfa-tocoferil y negativamente afectada por la luz verde. En cuanto a la calidad de las plumas se observa una ligera asociación negativa entre los tratamientos de luz natural y luz verde, coincidiendo con el Figura 1 (dimensiones 2 y 3); asimismo se puede notar una nula relación con los tratamientos suplementados.

Para la forma del cráneo se observa una alta asociación del efecto del tratamiento de luz natural + dl-alfa-tocoferil (Figura 1) y luz verde + dl-alfa-tocoferil (Figura 2), indicando que la suplementación mejora positivamente la formación del mismo, por el contrario del efecto de la luz verde por sí sola.

En cuanto a los tarsos, la luz natural tuvo un efecto negativo en la forma y solidez de los mismos, mientras que el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil disminuyó ampliamente las deformidades en los mismos así como la prevención de sitios inflamados (Figuras 1 y 2).

Por otro lado, el tratamiento de luz natural influyó negativamente en la cicatrización del ombligo, contrario de lo observado con el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil, el cual demuestra una asociación positiva con la rápida cicatrización del mismo (Figuras 1 y 2). Asimismo, la viveza del pollito fue negativamente afectada por el tratamiento de luz verde, notando algunas de las aves decaídas, mientras que el tratamiento de luz verde + dl-alfa-tocoferil mejoró el comportamiento del pollito al nacimiento.

Finalmente, cabe señalar que la forma e integridad de los ojos, pico, quilla, escápulas y alas se vieron ligeramente afectadas por todos los cuatro diferentes tratamientos, indicando que los tratamientos utilizados no influyen como tal en su proceso de formación.

## DISCUSIÓN

### 1. Peso, longitud del pollito y longitud de los tarsos

- **Peso**

Debido a que el tratamiento con luz verde tuvo un peso más elevado comparado con los otros tratamientos, es posible decir que la luz afectó positivamente en la ganancia de masa muscular de los embriones. Este efecto concuerda con lo mencionado por Rozemboim *et al.* (2013), pues los embriones criados bajo luz verde fluorescente tienden a mejorar notablemente la ganancia de peso en comparación con aquellos criados bajo otro tipo de color de luz u oscuridad, ya que la estimulación con luz verde en los días críticos (día 14) del desarrollo embrionario (Öskan *et al.*, 2012), acelera el crecimiento de la masa muscular (Halevy *et al.*, 2006b), específicamente, las células “satélite”, las cuales se mantienen estimuladas hasta los primeros 5 días de edad del pollito, permitiendo que tengan una eclosión temprana de al menos un día previo a la fecha establecida.

Por otro lado, la combinación de la luz verde + dl-alfa-tocoferil sugieren que en conjunto, pueden mejorar el desempeño de los embriones al proveer un estimulador de la masa y muscular así como una reserva extra de antioxidantes que definirán un mejor estado físico de los pollitos al nacimiento (Schaal, 2008).

- **Longitud del pollito y de los tarsos**

De acuerdo con Archer *et al.* (2009), la longitud del pollito, depende de la fotoestimulación que se percibe en los días críticos, ya que al estimular la glándula pineal se estimulan a su vez, otra serie de mecanismos, como las ya mencionadas células “satélite” y los genes *pax 7*, permitiendo una sobreexpresión de receptores musculares que aceleren el desarrollo del pollito disminuyendo el periodo de incubación y mejorando el tamaño de los pollitos, sucediendo esto también en las extremidades. Aunque el tamaño de las aves depende directamente de las variables genéticas y condiciones de los huevos previos a su incubación, Salary *et al.* (2014) mencionan que una suplementación de nutrientes exógenos en la yema de tal manera que los requerimientos nutricionales de los embriones estén completos para su uso en la formación de órganos y huesos y que sirvan

como reserva una vez eclosionados los pollitos y no existan pérdidas de peso ni afectación de los órganos internos.

## **2. Calidad del pollito al nacimiento**

De acuerdo con las clasificaciones de calidad que se realizaron de los pollitos nacidos, se observó que los tratamientos con luz verde tuvieron un porcentaje alto de primera calidad comparado con los tratamientos de luz natural. Se conoce que las condiciones ambientales durante la embriogénesis del pollito son fundamentales para su bienestar y desempeño productivo visible al nacimiento. De acuerdo con Nickla y Totonelly (2016), la luz, al estimular a los fotorreceptores presentes en el ojo y la glándula pineal genera cambios en el desarrollo del sistema nervioso que afectan la salud (Slawinska *et al.*, 2016), el peso, la productividad de los pollitos al nacimiento y su comportamiento (Archer *et al.*, 2009). Mientras que el efecto de la dl-alfa-tocoferil, tiene como efecto la disminución de radicales libres liberados al momento del picaje y durante todo el proceso de nacimiento. Como se mencionó anteriormente, la administración exógena de nutrientes, previo al nacimiento, se convierte en una reserva de nutrientes necesarios para su mantenimiento y crecimiento que permitirán que haya un porcentaje de viabilidad elevada durante el primer día hasta los primeros 7 días de nacimiento, comparados con aquellos que no fueron suplementados y en los cuales existe un desvío de nutrientes en el organismo afectando los parámetros de producción y de calidad de los pollitos (Chen *et al.*, 2010). Molenaar *et al.* (2010) y Moghaddam *et al.* (2013) coinciden en que la administración de nutrientes durante la última fase de desarrollo embrionario mejora el estatus de salud tanto del embrión como del pollito.

Es importante destacar que el tratamiento de luz natural + dl-alfa tocoferil tuvo un 10% más de pollitos de primera calidad debido a la suplementación de antioxidantes, los cuales permitieron a aquellos embriones que se encontraban en mala calidad o bien, habían agotado sus reservas de nutrientes, eliminar aquellos radicales libres que pudieron haber afectado el proceso de nacimiento. Si bien es cierto que se tuvo un 20% de pollitos de tercera calidad, se puede decir que la administración de esta vitamina antioxidante redujo el porcentaje de pollitos de mala calidad (Schaal, 2008).

En cuanto al análisis de correspondencias, se observa una asociación tanto positiva como negativa entre los tratamientos y cada parámetro evaluado. Se destaca que los tratamientos suplementados con dl-alfa-tocoferil mejoraron la calidad de los pollitos, ya que no tuvieron efectos negativos en la formación de piel, huesos y ojos. De acuerdo a Surai *et al.* (2016), este efecto se debe a una correcta absorción de la vitamina en el organismo de las aves durante el último tercio de desarrollo embrionario sin generar un desvío de nutrientes de los órganos y músculos en proceso o ya formados (Singh *et al.*, 2006).

Asimismo, en este estudio se detecta que los tratamientos no suplementados con dl-alfa-tocoferil, tuvieron en ciertos parámetros efectos muy negativos, como lo fue en el caso de los tarsos así como en la viveza de los pollitos. Cabe mencionar, que los pollitos criados bajo estos tratamientos no recibieron una suplementación de dl-alfa-tocoferil lo que de acuerdo a Zeman *et al.* (2016) pudo provocar un incremento de especies reactivas y agotar las reservas de energía durante el proceso de nacimiento, en comparación con aquellos que recibieron la alimentación *in ovo* (Hossain *et al.*, 1998) afectando su comportamiento al nacimiento (Kristensen *et al.*, 2007). Aunque la luz verde tuvo efectos positivos en los parámetros productivos (Slawinska *et al.*, 2013), generó respuestas no deseables al momento del picaje, ya que éste se realizó en la parte media del huevo y no en la cámara de aire, debido a un mal posicionamiento durante los últimos días de incubación. De acuerdo a Archer *et al.* (2009), esto se debe a que la luz verde en dosis elevadas genera alteraciones en la lateralización del cerebro (Rogers *et al.*, 1998) así como asimetrías, especialmente en los tarsos.

De los resultados obtenidos en este estudio, se establece que la combinación de dl-alfa-tocoferil y luz verde mejoraron la calidad del pollito al nacimiento en cuanto al peso y tamaño de los pollitos, además de que no hubo presencia de deformidades en las variables de calidad medidas, incrementando el porcentaje de pollitos de primera calidad.

La modificación de la técnica para la aplicación de la inyección *in ovo* redujo el daño físico al embrión y fue de mayor precisión en la administración de nutrientes en el saco vitelino.

Por otra parte, la luz verde por sí sola tiene efectos positivos en relación con la ganancia de peso y crecimiento del pollito se refiere, sin embargo, presenta efectos no deseados en otros parámetros medibles para la calidad del pollito.

Finalmente se sugiere continuar con más estudios que, más que ser aplicables en la industria avícola, sirvan como guía para realizar más investigaciones que involucren la generación de embriones de pollo como modelos experimentales con estándares de excelente calidad y asimismo, puedan ser aplicables en embriones de importancia económica así como para la conservación de especies.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo se desarrolló como parte de las líneas de investigación del proyecto “*Expresión de Genes Relacionados con la Integridad de los Folículos y Descripción de Algunas Características Espermáticas Inherentes a su Capacidad Fertilizante*” registrado en la DCBS de la UAM-X. Agradecemos al Dr. José Antonio Moyao responsable del “*Grupo Pecuario San Antonio*”, Yecapixtla, Morelos por la donación de los huevos fértiles de gallina para realizar los estudios experimentales.

## **REFERENCIAS**

### **Artículos de un solo autor**

Boerjan, M., 2002. Programs for single stage incubation and chick quality. *Avian and Poultry Biology Reviews*. 13: 237-238.

Quintana, J. A. (2016). *Incubatecnia*. BM Editores.

Schaal, T. P. (2008). The effect of in ovo feeding of fatty acids and antioxidants on broiler chicken hatchability and chicken tissue lipids.

### **Artículos de dos autores**

Archer, G. S., Shivaprasad, H. L., & Mench, J. a. (2009). Effect of providing light during incubation on the health, productivity, and behavior of broiler chickens. *Poultry Science*, 88(1), 29–37.

Kalinka, A. T., & Tomancak, P. (2012). The evolution of early animal embryos: Conservation or divergence? *Trends in Ecology and Evolution*, *27*(7), 385–393.

Nickla, D. L., & Totonelly, K. (2016). Brief light exposure at night disrupts the circadian rhythms in eye growth and choroidal thickness in chicks. *Experimental Eye Research*, *146*, 189–195.

### **Artículos de tres autores**

Archer, G. S., & Mench, J. A. (2014). Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, *152*, 44–51.

Bhanja, S., Mandal, A., & Johri, T. (2003). Standardization of injection site, needle length, embryonic age and concentration of amino acids for in ovo injection in broiler breeder eggs. *Indian Journal Poultry Science*, *39*(2), 105–111.

Chen, W., Xu, J., Tangara, M., & Peng, J. (2010). Effects of in ovo injecting disaccharides and alanyl-glutamine dipeptide on the energy status in duck embryos and neonates. *Animal Reproduction Science*, *122*(1–2), 29–35.

Giannaccini, M., Cuschieri, A., Dente, L., & Raffa, V. (2014). Non-mammalian vertebrate embryos as models in nanomedicine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, *10*(4), 703–719.

Halevy, O., Biran, I., & Rozenboim, I. (1998a). Various light source treatments affect body and skeletal muscle growth by affecting skeletal muscle satellite cell proliferation in broilers. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, *120*, 317–323.

Halevy, O., Piestun, Y., Rozenboim, I., & Yablonka-Reuveni, Z. (2006b). In ovo exposure to monochromatic green light promotes skeletal muscle cell proliferation and affects myofiber growth in posthatch chicks. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology.*, *290*, R1062–R1070.

Hossain, S. M., Barreto, S. L., Bertechini, A. G., Rios, A. M., & Silva, C. G. (1998). Influence of dietary Vitamin E level on egg production of broiler breeders , and on the

growth and immune response of progeny in comparison with the progeny from eggs injected with Vitamin E. *Animal Feed Science and Technology*, **73**, 307–317.

Kristensen, H. H., Prescott, N. B., Perry, G. C., Ladewig, J., Ersbøll, A. K., Overvad, K. C., & Wathes, C. M. (2007). The behaviour of broiler chickens in different light sources and illuminances. *Applied Animal Behaviour Science*, **103**, 75–89.

Moghaddam, A., Karimi, I., Borji, M., & Bahadori, S. (2013). Effect of royal jelly in ovo injection on embryonic growth, hatchability, and gonadotropin levels of pullet breeder chicks. *Theriogenology*, **80(3)**, 193–198.

Molenaar, R., Reijrink, I., Meijerhof, R., & Van den Brand, H. (2010). Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation : A Review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, **12(3)**, 137–148.

Moraes, V. M. B., Malheiros, R. D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., As, P., Macari, M. (2003). Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. *Journal of Thermal Biology*, **28**, 133–140.

Nassar, M., Halle, I., Plagemann, A., & Tzschentke, B. (2015). Comparative Biochemistry and Physiology , Part A Detection of long-term influence of prenatal temperature stimulation on hypothalamic type-II iodothyronine deiodinase in juvenile female broiler chickens using a novel immunohistochemical amplification. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **179**, 120–124.

Özkan, S., Yalçın, S., Babacano, E., Kozano, H., Karada, F., & Uysal, S. (2012). Photoperiodic lighting (16 hours of light : 8 hours of dark) programs during incubation : 1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. *Poultry Science*, **91**, 2912–2921.

Palmquist-Gomes, P., Guadix, J. A., & Pérez-Pomares, J. M. (2016). A chick embryo cryoinjury model for the study of embryonic organ development and repair. *Differentiation*, **91(4–5)**, 72–77.

- Rogers, L. J., Andrew, R. J., & Burne, T. H. J. (1998). Light exposure of the embryo and development of behavioural lateralisation in chicks , I : olfactory responses. *Behavioural Brain Research*, **97**, 195–200.
- Rozenboim, I., Halawani, M. E. El, Kashash, Y., Piestun, Y., & Halevy, O. (2013). General and Comparative Endocrinology The effect of monochromatic photostimulation on growth and development of broiler birds. *General and Comparative Endocrinology*, **190**, 214–219.
- Salary, J., Sahebi-Ala, F., Kalantar, M., & Matin, H. R. H. (2014). In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **4(Suppl 2)**, S616–S619.
- Singh, H., S, S., & Kaur, R. (2006). Effects of dietary supplements of Selenium, Vitamin E or combinatins of two on antibody responses of broilers. *British Poultry Science*, **47**, 714–719.
- Surai, P. F., Fisinin, V. I., & Karadas, F. (2016). Antioxidant Systems in Chick Embryo Development. Part 1. Vitamin E, Carotenoids and Selenium. *Animal Nutrition*, (JANUARY).
- Zeman, M., Mackova, M., Griac, P., Zambrowicz, A., Dąbrowska, A., Bobak, Ł. & Advisory, C. V. (2016). Incubatecnia. *Animal Reproduction Science*, **11(1)**, 83–132.

# ANEXOS

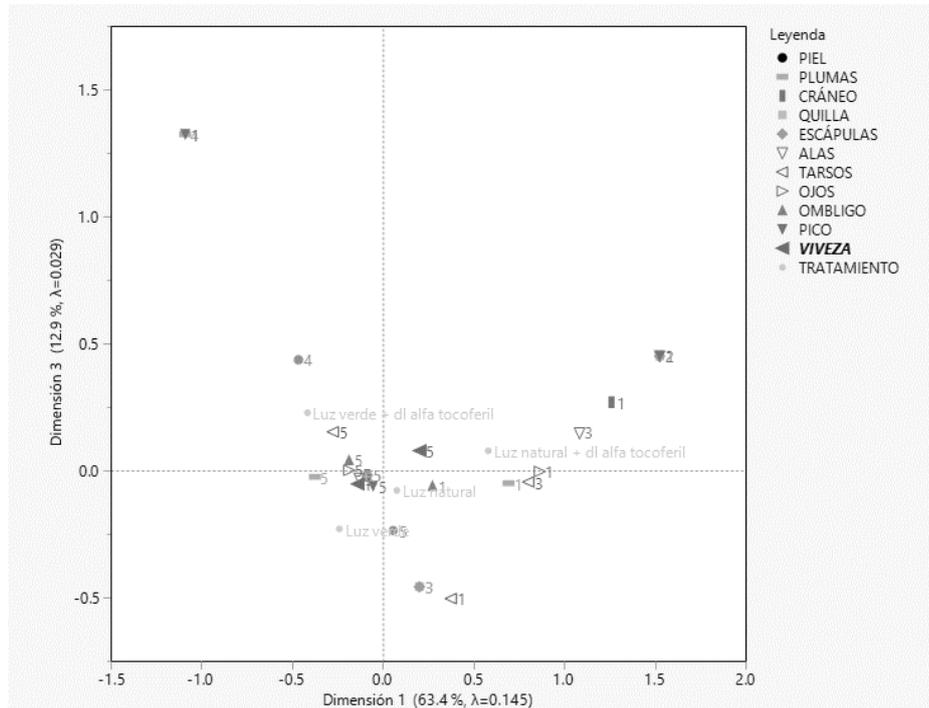


Figura 1. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos en las dimensiones 1 y 3.

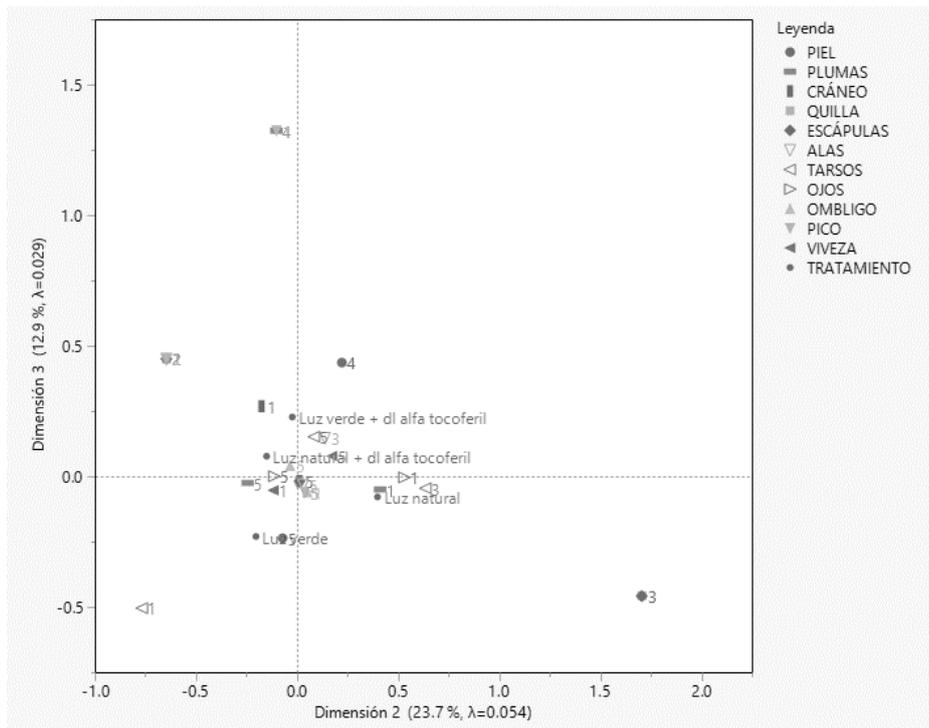


Figura 2. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos en las dimensiones 2 y 3.

**CONGRESOS DONDE SE PRESENTARÁN  
LOS RESULTADOS DE ESTA TESIS:**



CDMX. a 13 de Marzo de 2017

Dr. López RA.

Por medio de este conducto me es muy grato informarle que su trabajo titulado:

**EFFECTO DE LA LUZ Y SUPLEMENTACIÓN CON *dl-alfa tocoferil* EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y CALIDAD AL NACIMIENTO DEL POLLITO.**

Fue aceptado para su presentación en nuestra XLII Convención Nacional ANECA que se llevara a cabo en el hotel Galerías Plaza Veracruz, Boca del Río, Veracruz del 3 al 6 de mayo de 2017, en la modalidad de exposición oral.

Su Conferencia tendrá una duración de 12 minutos de exposición más 3 minutos de preguntas y estaría programada\* para presentarse el día:

**SABADO 06 DE MAYO, SALA DR. HUGO FUNES 09:15-09:30 Hrs.**

De acuerdo con las indicaciones de la Convocatoria, es necesario que el autor responsable de la presentación se inscriba a la Convención, para poder ser considerado en el programa definitivo de la Convención. Para la inscripción de los autores, le solicitamos contactar a Julio Arellano, al tel. (55)56-73-64- 47, o al correo electrónico: [aneca@prodigy.net.mx](mailto:aneca@prodigy.net.mx)

\* Programación preliminar sujeta a la inscripción del autor a la Convención.

Atentamente

Dr. Juan Carlos Valladares. Coordinador de Trabajos Libres XLII Convención Anual ANECA 2017.



03 al 06 de Mayo  
2017