DECIMOSEXTO CONGRESO INTERNACIONAL
AVEM 2024

Pachuca, Hidalgo, México
12 al 15 de junio de 2024

Víctor Manuel Petrone García
Editor en jefe

Decimosexto Congreso Internacional AVEM

Editor en jefe: Víctor Manuel Petrone Garcia

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida ni parcial ni totalmente ni registrada en, o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico o cualquier otro, sin el previo y por escrito de la editorial.

La información contenida en cada uno de los trabajos es responsabilidad de los autores

Derechos reservados Aviespecialistas de México AC © 2024, 1ª edición.
Clavelinas 266, Nueva Santa María, 02800 Azcapotzalco, Ciudad de México

ISBN:

Impreso y hecho en México

MESA DIRECTIVA DE AVEM 2023-2025

PRESIDENTE
Víctor Manuel Petrone García

VICEPRESIDENTE
Gustavo Medel

SECRETARIO
Víctor Manuel Valdés Narváez

TESORERO
Enrique Oscar García Vera

VOCALES RELACIONES NACIONALES
Alberto García Meade

VOCALES RELACIONES COMERCIALES
Román Eduardo López Cortés

VOCAL ESTATUTOS
Ángel Felix Borbolla

COMITÉ DE MEMBRESÍAS
Jorge Sanchez Zúñiga

COMISIÓN CIENTÍFICA
Víctor Manuel Petrone
Jorge Aguirre Esponda
Enrique Oscar García Vera

Comisión Científica Internacional
Inkar Castellanos Huerta
Guillermo Téllez Isaías

CHAIRMAN DEL CONGRESO
Jorge Sánchez Zúñiga

COORDINADORES DE DELEGACIONES REGIONALES
Víctor Ortiz Herrera

LISTA DE CONTENIDOS

MESA DIRECTIVA de AVEM 2023-2025 ..... **3**
PRESIDENTE 3

INDICADORES DE SALUD CON IMPACTO ECONÓMICO EN PONEDORAS COMERCIALES **6**
Guillermo Zavala 6

ESTRATEGIAS NUTRICIONALES PARA MODULACIÓN DE PESO DE HUEVO EN EDAD AVANZADA Y SEGUNDOS CICLOS. UNA REVISIÓN DE LITERATURA **13**
Hans Mann 13

SISTEMATIZACIÓN DE INFORMACIÓN: UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA MEJORAR EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO AVÍCOLA. UNA REVISIÓN DE LITERATURA **82**
Hans Mann 82

HALLAZGO DE *Heterakis gallinarum* E *Histomona meleagridis* EN GALLINAS DE POSTURA EN JAULAS CON PISO ELEVADO **108**
*[a] Alexis Rocha González, [a] Jesús Eduardo Morales Barrera 108

PELLETS PREPARADOS CON FITOELEMENTOS EN SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE HUEVOS EN GALLINAS PONEDORAS EN SU SEGUNDO Y TERCER CICLO DE PUESTA BAJO ESTRÉS CALÓRICO **113**
Zacnite Sánchez Portilla[1], Lilia Gutiérrez Olvera[1], Héctor Sumano López[1], Lizbeth Carrillo González[1] 113

DETERMINACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE *Aspergillus flavus* **122**
Daniela Gama-Aguayo1, Gerardo Ramírez-Rico1, Juan Omar Hernández Ramírez1, Guadalupe Mireya dela Garza-Amaya2 122

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae* EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y DESARROLLO DEL SISTEMA DIGESTIVO EN POLLO DE ENGORDA **145**
Ingrid Martinez, Jorge Rubio, Miliane Alves da Costa, Gilson Gomes, Alexandre Barbosa 145

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDA ALIMENTADOS CON DIETAS CON DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA Y ENERGÍA Y ACEITES ESENCIALES **147**
Jorge Hiram García García1, Jorge Loredo Osti1*, Jaime Salinas Chavira1, Flaviano Benavides González1, Enrique Corona Barrera1, Elvia Margarita Romero Treviño2 y Fidel Infante Rodríguez1 147

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE BUTIRATO DE SODIO EN DIETAS PARA POLLO DE ENGORDA DE 1 A 49 DÍAS DE EDAD SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, PIGMENTACIÓN CUTÁNEA, RENDIMIENTO DE CANAL Y LONGITUD DE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES **155**
Ángel Manuel Ornelas Roa1, Melanie Margarito Romero1,2 155

DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA LACTOFERRINA BOVINA EN *Fusarium verticillioides* **161**
Ricardo Ramírez-Mondragón, Juan O. Hernández-Ramírez, Gerardo A.Ramírez-Rico y Guadalupe Mireya De la Garza-Amaya 161

SUPLEMENTACIÓN DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO EN DIETAS CON NIVELES REDUCIDOS DE ENERGÍA Y SU EFECTO SOBRE EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y EL RENDIMIENTO EN CANAL DE POLLOS DE ENGORDA **170**
Richard Alexander Mudarra Hernandez[1]*, Theerawit Poeikhampha[2] 170

UNA SOLUCIÓN FITÓGENA Y FICOGÉNICA ENCAPSULADA MEJORA EL RENDIMIENTO DE LOS POLLOS DE ENGORDE Y LAS FUNCIONES DIGESTIVAS.....178

Stephanie Ladirat [1], Ahmed Elolimy [2,5], Mosad M. Hashim [3], Salah A. El-Safty [4], AbdelRahman YM Abdelhady [4], Mohamed Shourrap [4], Mahmoud Madkour [2].....178

INDICADORES DE SALUD CON IMPACTO ECONÓMICO EN PONEDORAS COMERCIALES

Guillermo Zavala
APHA, Animal and Plant Health agency, UK

En países con problemas enzoóticos de enfermedades catastróficas existe una fuerte tendencia a ignorar numerosos problemas de menor impacto sobre el rendimiento de las aves, pero que en su conjunto pueden ser tanto o más importantes que las enfermedades catastróficas.

Es comprensible que los técnicos de campo concentren sus preocupaciones y esfuerzos alrededor de infecciones causadas por virus de Newcastle virulento (vNDV), o influenza aviar subtipos H5N2 y H7N3 (en países como México), o H9N2 y H7N9 y otros en África, Oriente Medio, Asia Central, sureste de Asia y China. Existe también preocupación universal por desafíos constantes o intermitentes de coriza infecciosa (Avibacterium paragallinarum), encefalomielitis aviar (AEV), Mycoplasma gallisepticum (MG) y síndrome de baja de postura 1976 (EDS76). Los problemas causados por cualquiera de estos patógenos son tan significativos, que los técnicos de campo tienden a ignorar muchos otros problemas que son menos explosivos. El objetivo de este resumen es presentar una breve recapitulación de alunas estrategias que pueden implementarse para abordar problemas cotidianos con impacto sanitario y económico y algunos indicadores que representan la interfase entre genética, sanidad, nutrición y alimentación, manejo de aves, bienestar animal, e inocuidad de alimentos.

Vigilancia de indicadores productivos. Para ejemplificar la importancia de las interacciones entre datos productivos, sanidad, nutrición, bienestar animal, genética y manejo de aves, se ilustra a continuación la importancia del manejo correcto de la temperatura ambiental. La producción, productividad y viabilidad de las gallinas es muy sensible a cualquier variación en el ambiente, la nutrición, la alimentación y la iluminación. En países o zonas con temperaturas ambientales extremas es necesario operar con galpones totalmente cerrados. Esto facilita la manipulación de la temperatura del interior de los galpones, de manera que además de modularse la temperatura para el bienestar de las aves, es posible operar en rangos de temperatura alta para reducir el consumo de alimento, y con ello reducir o controlar el peso de huevo. Es sumamente difícil e impráctico intentar hacer manipulaciones relativamente rápidas en el tamaño de huevo a través de la nutrición, sin contar con la posibilidad de controlar la temperatura del ambiente de las aves. Cuando se trabaja con galpones abiertos se es más vulnerable a variaciones de temperatura y con ello pueden llegar a observarse alteraciones en el consumo de alimento que requieren ajustes en la densidad nutricional para adaptarlas al consumo real. Es fundamental considerar que el consumo de alimento depende de las necesidades de energía neta, y estas necesidades de energía son directamente influenciadas por la actividad productiva de huevo, la actividad física de las gallinas, y la temperatura ambiental. A mayor temperatura, menos necesidad de energía, menor consumo de alimento, y menor tamaño de huevo. Si el consumo de alimento se reduce por periodos bastante prolongados debido a altas temperaturas ambientales, será necesario ajustar la dieta para que el consumo reducido no resulte en un déficit de calcio, que puede conducir a descalcificación, deformaciones del esternón y las costillas, fracturas, incremento de mortalidad y disminución de la calidad de la cáscara de huevo en forma prematura. A través de este ejemplo, puede verse que una simple notificación de incrementos en el porcentaje de huevo fisurado, roto o con translucencia excesiva por parte de la planta clasificadora de huevo podría significar la presencia de problemas sanitarios como Newcastle, bronquitis infecciosa o influenza aviar, pero también puede obedecer a problemas complejos de interacciones entre manejo, nutrición, genética, problemas de ambiente y otros factores que el técnico de campo debe conocer y considerar antes de sospechar de problemas infecciosos de índole catastrófica como Newcastle o influenza aviar. Entre otros factores, deben considerarse los siguientes cada vez que se revise una parvada:

- En el campo:
    - *Línea genética.* Existen diferencias importantes entre líneas genéticas o productos comerciales que hacen necesarios algunos ajustes en diversas áreas para extraer el máximo potencial genético de cada línea, sin utilizar el mismo programa para todas las líneas. En el campo sanitario, la experiencia de campo sugiere que algunas líneas se recuperar más pronto y mejor que otras después de un embate con influenza aviar. No debe esperarse que todas las líneas se comporten de manera equivalente.

- *Edad*. La edad de cualquier lote es fundamental para contextualizar aspectos importantes como son la calidad de la cáscara, unidades Haugh, nivel de producción y mortalidad semanal o la administración de dietas específicas para rangos específicos de edad. Por ejemplo, las aves pierden gradualmente su eficiencia para absorber, metabolizar y utilizar calcio conforme avanza su edad. Por ello es necesario ajustar las dietas para incrementar gradualmente el calcio.
- *Mortalidad semanal.* La mortalidad semanal es una cifra de primordial importancia pues afecta directamente la producción por ave alojada al final del ciclo productivo, y la conversión alimenticia o calórica, además de la reducción de la producción de huevo. Adicionalmente, cuando hay incrementos de mortalidad, no solo se pierden los huevos que las gallinas muertas no producirán, sino que junto con la mortalidad casi siempre hay pérdidas en la producción y calidad de huevo en las aves sobrevivientes, como resultado de periodos febriles, malestar, consumo reducido de alimento y/o agua, y afectación del tracto reproductivo en algunas enfermedades.
- *Historia de la parvada (ciclo único vs. dos ciclos).* Aunque en apariencia esto es un concepto simple y demasiado obvio, en realidad es sumamente importante. Las aves de segundo ciclo restauran su densidad ósea, pero pueden, dependiendo de varios factores, producir huevos demasiado grandes y prolapsarse parcial o totalmente. La exposición prolongada de la mucosa de la cloaca puede propiciar mayores prolapsos y picaje y evisceraciones. En realidad, ya no es necesario hacer muda forzada para mantener la calidad de la cáscara de huevo. Los ciclos pueden ser de 90-100 semanas sin que haya un deterioro importante en la calidad externa de los huevos.
- *Producción gallina día.* La producción diaria es uno de los datos de producción más sensibles. Para el gerente de producción representa número de cajas de huevo vendibles. Para el especialista en sanidad representa un problema sanitario potencial. Para el nutricionista representa problemas de formulación, calidad de ingredientes, proceso de manufactura del alimento, calidad de alimento, y muchos otros factores posibles. No cualquier baja de producción gallina día representa solo influenza, Newcastle, coriza infecciosa, laringotraqueítis o algún otro problema sanitario que deba confirmarse o descartarse lo antes posible.
- *Peso de huevo.* Las causas más frecuentes de bajo peso de huevo se relacionan con el consumo. El consumo puede estar influenciado por la temperatura ambiental. Algunas enfermedades contribuyen a reducir el tamaño de huevo. Algunas manipulaciones o errores nutricionales pueden también afectar o retrasar la ganancia de peso de huevo, como son las dietas de inicio de puesta con baja proteína cruda para [erróneamente] ahorrar en el costo por tonelada de alimento. Los nutricionistas pueden manipular los niveles de metionina, metionina+cistina, ácido linoleico y proteína cruda ya sea para intencionalmente controlar el tamaño de huevo, o para “ahorrar” en proteína cruda mediante la reducción de la proporción de proteína cruda, adicionando treonina, por ejemplo. Es importante razonar fuera de lo ordinario. Un simple problema de calidad de tratamiento de picos puede resultar en un alto número de aves incapaces de consumir alimento correctamente, en especial si por alguna razón la empresa alimenta aves en producción con pellets. Las aves afectadas no producirán huevos, o producirán huevos más pequeños y en menor cantidad.
- *Peso y uniformidad de las aves.* Sin duda, hay numerosos factores que afectan el peso, desarrollo y uniformidad de las aves. Una baja uniformidad provoca inicios de puesta tardíos, picos de producción subóptimos, y baja persistencia de la producción de huevos. Existen numerosos ejemplos de problemas sanitarios, de manejo, nutricionales, etc., que propician bajos pesos y baja uniformidad y es importante considerarlos antes de atribuir los bajos picos de producción y persistencia solo a problemas sanitarios. Uno de los motivadores de bajo peso y uniformidad más importantes es el exceso de vacunas y vacunación. La simple aplicación de bacterinas contra bacterias Gram negativas puede generar fiebre, inapetencia y bajo consumo de agua y alimento, con el consecuente retraso en la ganancia de peso y una disminución de la uniformidad.
- *Consumo de alimento por día.* Pocas empresas tienen la capacidad de pesar la cantidad de alimento consumido por día y los cálculos se realizan de manera indirecta y por sustracción. En los Estados Unidos

no se cuenta con básculas auxiliares para cada galpón, por lo que se acostumbra a calcular el consumo de alimento promediando la cantidad de alimento destinada a cada galpón en espacio de 4 semanas, para entonces promediar el consumo diario. Lo importante es contar con un método de contabilidad lo más preciso posible y vigilar cercanamente el consumo de alimento, pues cualquier disminución podría significar problemas de calidad de alimento, palatabilidad, intoxicaciones, problemas sanitarios, voltaje libre en los galpones, etc.

- *Consumo de agua por día y por hora.* El consumo de agua diario es absolutamente fundamental para las aves, su productividad y bienestar. Sin embargo, hay muchos ejemplos en el campo en los que los galpones no cuentan con medidores de consumo agua. Es básico registrar y vigilar el consumo de agua diariamente. No solo es importante dar seguimiento al consumo diario en volumen total, sino también asegurarse de que las aves tienen acceso al caudal de agua justo cuando más lo necesitan. En galpones cerrados es más fácil atestiguar las variaciones en el consumo dentro del espacio de un día. Las aves consumen más agua inmediatamente después de encenderse las luces. Después podrán incrementar brevemente su consumo de agua hacia el mediodía, y finalmente, consumen mucha más agua en las últimas 2-3 horas del día antes de apagarse las luces. Aunque el volumen consumido podría parecer normal, si no hay caudal y presión suficiente para que las aves consuman más agua en los tres periodos en que más la necesitan, esto puede afectar su producción. Las tuberías de agua deben poder soportar la presión y los caudales requeridos en todo momento.
- *Fórmula o fase de alimentación.* Independientemente de la fase de alimentación, el consumo diario de alimento cambia muy proco durante la etapa de producción una vez que las aves han alcanzado su pico de producción. Casi todos los nutrientes disminuyen gradualmente de una fórmula a otra. Solo el calcio se incrementa gradualmente a lo largo del ciclo de producción para compensar el deterioro progresivo en la habilidad de las gallinas para absorber, metabolizar, movilizar y depositar calcio en la cáscara de huevos. Siempre al examinar cualquier lote de aves es importante verificar que efectivamente estén recibiendo la dieta correspondiente a su fase de producción y a su edad para evitar problemas de producción, mortalidad y calidad de huevo.
- *Suplementación con calcio grueso*. Algunas empresas en climas cálidos y húmedos (tropicales) optan por la alimentación en pellets y no en harina. No es posible producir pellets de buena calidad cuando es necesario proporcionar a las gallinas 50% del calcio en forma de partículas gruesas de 200-400 um. En esos casos se recurre a suplementar con carbonato de calcio (grit) o con concha de ostión distribuidos manual o semi-mecánicamente en forma diaria. Cada vez que se confía un proceso más a los empleados de las granjas se toman riesgos que en este caso podrían evitarse. Si no se suplementa el calcio grueso en forma correcta puede haber fácilmente problemas de descalcificación, y bajas de producción y de calidad de cáscara. La translucencia no es solo una deficiencia genética sino también nutricional.
- *Densidad de aves.* Uno de los problemas más comunes en muchas empresas es la sobrepoblación de aves en jaula en producción. Aunque el número promedio de aves sea en apariencia el correcto, es común que los empleados capturen aves sueltas y las coloquen en cualquier jaula sin considerar el número de aves o el espacio por ave en cada jaula. También es común que cuando las empresas resuelven sus problemas sanitarios en crianza, de pronto se ven obligadas a alojar un mayor número de aves con las que no contaban en las granjas de producción. Es frecuente que la mortalidad sea mayor cuando la densidad es excesiva, especialmente si la calidad del tratamiento de picos es deficiente y la luminosidad de los galpones es alta.
- *Condición de los picos.* Las aves con picos largos tienden a manifestar agresividad y contribuyen a la mortalidad de las parvadas. Las aves con picos demasiado cortos o mal cortados consumen menos alimento e incluso pueden no producir huevos.
- *Condición de las instalaciones y equipos*. En América Latina se acostumbra a lavar y desinfectar en muchos países, Sin embrago hay empresas que solo lavan en seco, con aire a presión o con escobas y cepillos con la intención de preservar el equipo. Aunque este tipo de limpieza contribuye a prolongar la vida útil de los equipos, no es compatible con la prevención y control de enfermedades infecciosas. Ejemplos de

enfermedades que prevalecen en instalaciones mal lavadas y desinfectadas incluyen enfermedad de Marek, Gumboro, paratifoidea, tifoidea aviar e incluso Newcastle e influenza, al menos por días o semanas. Cuando se identifican muchas aves con traumatismos es importante revisar la condición de los equipos para reducir las causas de daños físicos a las aves y problemas de mortalidad asociados a traumatismos.

- *Temperatura y humedad externa e interna*. Como se indicó anteriormente, la temperatura y humedad son un factor determinante para la calidad y tamaño de huevo. Las altas temperaturas por encima de la zona de confort para las aves en producción definitivamente pueden contribuir a la mortalidad total. Además, si las temperaturas son extremadamente altas en forma crónica, el consumo de alimento se reduce y con ello la oportunidad de consumir suficiente calcio y otros nutrientes. El estrés calórico y la mala calidad del ambiente son factores desencadenantes del recrudecimiento de virus de laringotraqueítis infecciosa (ILTV) vacunal o de campo. Una vez que se reactiva ILTV de campo o vacunal, puede sufrir pases regresivos y reversión a la virulencia, con consecuencias negativas sobre la viabilidad, consumo de agua y alimento, y producción.
- *Humedad de excretas*. Parte de la rutina de visitas a campo debe ser la inspección de las excretas, independientemente de cualquier edad. Debe revisarse la calidad de las excretas y su humedad sobre las bandas recolectoras de estiércol, sin esperar a que haya reportes por parte de quienes manejan, tratan y comercializan la gallinaza. La humedad excesiva de la gallinaza puede deberse a fugas de agua, problemas sanitarios o exceso de sodio en la dieta.
- *Lesiones orales*. Es importante hacer una revisión de la cavidad oral de cada lote en producción y registrar el porcentaje de aves con aftas ulcerativas, sugerentes de micotoxicosis. Cuando hay problemas de micotoxinas es frecuente que el porcentaje de aves con lesiones orales se incremente conforme avanza la edad de los lotes. Debe registrarse el porcentaje de aves con aftas en cada lote cada vez que se inspeccione con fines de hacer evaluaciones sanitarias y establecer una línea base para porcentajes de aves con aftas en cada rango de edad. A menos de que se trate de una contaminación inusualmente alta, las micotoxicosis generalmente pasan desapercibidas, pero si se descubre un incremento drástico en la proporción de aves con actas ulcerativas podrán tomarse medidas en la planta de alimento.

- *En la planta clasificadora:*
  - Merma de huevo en transporte. En ocasiones no se sabe que hay un problema nutricional, sanitario o de manejo hasta que en la planta clasificadora de huevos se descubre un incremento en la merma de huevo. Es decir, en la pérdida de huevos durante su transporte hacia la planta. Los incrementos en la merma pueden deberse a factores mecánicos, nutricionales o sanitarios y es importante considerar todos ellos al analizar las posibles causas.
  - Proporciones de tamaños de huevo (peewee, pequeño, grande, extragrande, jumbo). Genéticamente, cada línea presenta un perfil ligeramente distinto en las proporciones de tamaños de huevo a distintas edades. Fenotípicamente, el tamaño de huevo puede alterarse debido a factores nutricionales, de manejo, ambientales e incluso sanitarios. Los problemas más frecuentes ocurren en aves jóvenes, cuando no alcanzan a producir su potencial de huevos clasificados como “grandes, grado A”, con un peso de 58-62 gramos cada uno. Esto ocurre cuando los niveles de proteína son muy bajos al inicio de la puesta, y menos frecuentemente, cuando los niveles de metionina y ácido linoleico son bajos. Los virus de Newcastle genotipo V (y posiblemente otros) inducen una reducción sustancial en el tamaño de huevos en los lotes y en las aves afectadas, además de alterarse la calidad externa de los huevos.
  - *Fisurados.* Los huevos fisurados son mayores en número ante problemas de tipo infeccioso o debido a problemas nutricionales. Indirectamente, puede incrementarse en porcentaje de huevos fisurados ante problemas de tipo mecánico y en lotes de aves demasiado viejos. No es poco común que cuando el precio de huevo en el mercado es alto, las empresas conserven los lotes hasta 110 semanas o más con la consecuente afectación de la calidad externa e interna de los huevos.

- *Cáscara manchada.* Las manchas más frecuentes en la cáscara de huevos se asocian a problemas de humedad de las heces. En este caso, deben revisarse los niveles de inclusión de sodio, asegurarse de que no hay niveles de inclusión altos o inusuales de melaza, y que no haya problemas de espiroquetosis. En ocasiones es la planta clasificadora quien debe revisar sus procesos pues puede haber fallas en el proceso de lavado de huevos.
- *Manchas de sangre.* Las manchas de sangre ocurren al momento de abrirse el estigma de los folículos primarios para liberar el óvulo o yema. Genéticamente, algunas familias pueden presentar una mayor incidencia de manchas de sangre que otras, por lo que los programas de selección genética se enfocan a reducir al mínimo posible las manchas de sangre. Dado que las manchas de sangre tienen una heredabilidad considerable, no es difícil eliminarlas de las aves productoras de huevos blancos. Sin embargo, en aves productoras de huevos marrones esto es más difícil de lograr pues los equipos no detectan tan fácilmente estas manchas de sangre en los huevos marrones pues su translucencia es menor que en el caso de los huevos blancos. Fenotípicamente, pueden presentarse incrementos drásticos en el porcentaje de huevos con manchas de sangre cuando hay problemas de hiperexcitabilidad, particularmente en las horas de mayor producción de huevo. Las aves ovulan aproximadamente una hora después de la ovoposición, lo que significa que si se les maneja abruptamente o si se les asusta en las horas de la mañana cuando ponen la mayoría de los huevos, pueden presentarse hemorragias que son detectadas en la planta clasificadoras como manchas de sangre. También puede haber más manchas de sangre cuando hay problemas de rancidez de grasas y oxidación de vitaminas liposolubles, como ocurre cuando no se almacenan correctamente las premezclas vitamínicas o cuando se usan premezclas caducadas.
- *Huevos deformes o despigmentados prematuramente*. Muchas son las causas de huevos deformes, pero los problemas sanitarios son una causa común, incluyendo enfermedades como Newcastle, influenza, bronquitis infecciosa y Metapneumovirus. La despigmentación de los huevos marrón tiende a ocurrir ante problemas de intoxicación con ionóforos o con nicarbazina, o como consecuencia de problemas infecciosos que incluyen Newcastle, influenza aviar, Metapneumovirus aviar o síndrome de baja de postura 1976, y coriza infecciosa, entre otros.
- *Manchas de "carne" o tejidos (capa granulosa).* Al igual que las manchas de sangre, las "manchas de carne" tienen cierta predisposición genética y también son excluidas del programa de selección genética mediante la eliminación de aves o familias que expresan este defecto. Las manchas de carne representan en realidad fragmentos de tejido de la capa granulosa que se desprenden al momento de la ovulación. Es posible que algunos de los fragmentos detectados provengan también del epitelio del oviducto. Al igual que con las manchas de sangre, su incidencia puede aumentar ligeramente si se estresa a las aves en las horas de la mañana, cuando están liberándose la mayoría de los óvulos hacia el oviducto. Ni las manchas de sangre ni las de carne representan un problema de inocuidad de alimentos o sanitario, sino un problema estético que afecta la calidad del producto comercial. Debe mencionarse que en las etapas iniciales de la infección con virus sistémicos como Newcastle o influenza puede incrementarse ligeramente el número de huevos con manchas de sangre o carne.
- *Calidad microbiológica (Salmonella spp.).* Pocas empresas en América Latina vigilan el estatus de infección o contaminación con Salmonella paratifoidea en sus parvadas o en el producto comercial. Debe vigilarse al menos la posible presencia de serovares de Salmonella como S. enteritidis, S. typhimurium, S. infantis y otras que pudieran causar gastroenteritis en los consumidores. América Latina no refrigera huevos en general debido a que la mayoría de los consumidores no refrigeran los huevos. En Norteamérica la legislación dicta que los huevos deben lavarse, sanitizarse, sellarse y refrigerarse a no más de 7C, que representa el cero fisiológico de Salmonella spp. Si hubiera una contaminación, al menos la Salmonella spp. involucrada no continuará multiplicándose mientras los huevos estén en refrigeración.
- *Fortaleza de membrana perivitelina.* La evaluación de la fortaleza de la membrana perivitelina es un tanto subjetiva, pero es importante su evaluación para asegurarse de que los huevos no permanecen en las granjas por tiempo indefinido a temperatura ambiente, especialmente en clima cálido.

- *Unidades Haugh*. La densidad de la albúmina de huevo es una característica que se asocia con la edad del huevo en los anaqueles en los puntos de venta. La albúmina acuosa es percibida como una señal de falta de frescura de los huevos. Para el técnico de campo es importante dar seguimiento a las unidades Haugh, pues sus valores se alteran cuando el huevo envejece, o cuando hay problemas de tipo sanitario.
- *Resistencia de cáscara de huevo*. La resistencia de la cáscara de huevo es paralela a la calidad del programa nutricional e indirectamente a la exposición a temperaturas altas en forma permanente. También se altera ante problemas sanitarios como Newcastle, influenza o bronquitis infecciosa. La utilización de algunos fármacos como clortetraciclina por periodos prolongados puede contribuir a problemas de resistencia de cáscara de huevos. Algunas cepas de Mycoplasma synoviae en la Unión Europea causan defectos en el polo obtuso de los huevos marrones, que adquieren un aspecto esmerilado y tienden a fracturarse en ese polo afectado.
- *Color de cáscara de huevo*. El color de la cáscara también puede afectarse por problemas sanitarios virales o bacterianos, ante medicaciones accidentales como nicarbazina o por anticoccidianos ionóforos.
- *Translucencia.* La translucencia afecta la apariencia de los huevos y disminuye su valor económico. En aves reproductoras, una mayor translucencia se asocia además a tasas de nacimiento más bajas. La translucencia se asocia a una predisposición genética, pero sobre todo a problemas nutricionales que favorecen una mayor translucencia. Aunque el número de poros no se altera, el espesor de la cáscara puede reducirse, haciendo que la porosidad sea más notable. Paradójicamente, los huevos con mayor translucencia tienden a presentar cáscaras más gruesas y resistentes, pero su fertilidad es menor y su aspecto, en el caso de huevos comerciales, es poco atractivo.

Vigilancia de problemas sanitarios. La integridad sanitaria de las aves es fundamental para la continuidad de la productividad, el bienestar y la calidad de los huevos producidos. Numerosas implementan excelentes sistemas de respuesta ante problemas sanitarios explosivos o de otra índole, pero no cuentan con programas preventivos de calidad, ni con sistemas de vigilancia que no incluyan problemas infecciosos. Es importante contar con sistemas que permitan la evaluación de ligeras o severas variaciones de diversos aspectos de la producción.

- *Evaluaciones de campo*. Cada técnico de campo puede implementar su propio sistema para hacer evaluaciones de campo. Lo importante es contar con un sistema que considere siempre un enfoque multidisciplinario y no concentrarse exclusivamente en un conjunto reducido de problemas sanitarios. Idealmente, deben hacerse sesiones de necropsias en las que se organicen estadísticamente los hallazgos postmortem y las causas aparentes de mortalidad. Una vez organizados los datos, será posible determinar cuáles deben las prioridades para intentar resolverlas, sean de manejo, sanitarias, nutricionales, tóxicas, traumáticas, etc.

  - *Exámenes posmortem*. Siempre den examinarse al menos los siguientes cuatro tipos de aves:

    a. *Aves sanas en producción*. Siempre es fundamental examinar aves sanas seleccionadas aleatoriamente para obtener una impresión de la condición de las aves, su desarrollo, depósitos de grasa, actividad ovárica, integridad de órganos y sistemas, y otros aspectos básicos.
    b. *Aves aparentemente sanas fuera de producción*. Es importante localizar aves que no estén en producción y examinarlas posmortem para intentar determinar la o las razones por las que esta subpoblación no está contribuyendo a la producción de huevos.
    c. *Aves clínicamente enfermas*. Las aves clínicamente enfermas son una fuente de información invaluable, pero solo contribuyen a dilucidar el problema urgente. Las aves clínicamente sanas que están fuera de producción pueden ser en algunos casos tanto a más valiosas que las aves enfermas para intentar resolver problemas que reducen la productividad a largo plazo.
    d. *Aves muertas naturalmente*. Dado que las aves muertas no contribuyen a la producción en lo absoluto, es fundamental determinar las causas de mortalidad para intentar eliminarlas o reducirlas. La

mortalidad se considera un problema urgente. La falta de producción no lo es, pero ambas son importantes y ambas impactan la producción.

- *Consumo de agua y alimento*. En muchas ocasiones el primer signo que anuncia un problema sanitario o de otra índole es una baja en el consumo de agua y posteriormente de alimento. Los signos clínicos y mortalidad se presentan posteriormente. Por ello, debe mantenerse un registro detallado del consumo de agua diario, y si es posible, del consumo por hora o fracción.
- *Programas de calidad*. Los encargados de granja y los gerentes de producción deben contar con sistemas o programas de calidad al menos para los siguientes puntos:
  a. Agua. Consumo diario, consumo por hora (registro diario); y calidad fisicoquímica y microbiológica del agua (anual o semestral).
  b. Iluminación. Fotoperiodo, intensidad, tipo y distribución de luz. Debe asegurarse que no haya exposición al sol directamente en las filas de jaulas laterales.
  c. Consumo de alimento y sistemas de alimentación. Debe verificarse que los niveles de alimento y la frecuencia de alimentación son los prescritos. Las aves deben mostrar apetito especialmente en las horas de la mañana e inmediatamente después de rellenar los comederos.
  d. Apariencia física del alimento en la granja. Debe asegurarse que los niveles de alimento sean uniformes, que no haya desperdicios, que no haya evidencia de alimento con hongos, y que la granulometría sea la correcta a todo lo largo de los comederos.
  e. Calidad de ambiente, incluyendo espacio de aire y cama. Siempre debe registrarse la temperatura de los galpones cada hora para tomar medidas correctivas cuando sea posible. Los termómetros de máximas y mínimas temperaturas son inadecuados para mantener un ambiente correcto para las aves, de manera que sea compatible con su viabilidad, bienestar y productividad.
  f. Apariencia y comportamiento de las aves. El estado físico de las aves puede ser bastante revelador en cuanto su estado sanitario o nutricional. Para su evaluación, es necesario caminar por los pasillos observando a las aves para intentar la detección de problemas de comportamiento que sugieran deficiencias o imbalances nutricionales (aves postradas, aves agresivas, pérdida de plumaje prematuramente, vocalizaciones anormales, nerviosismo, aves aparentemente ciegas, etc.)
  g. Frecuencia de estomatitis por edad. Según se indicó, debe hacerse una inspección en al menos 30-50 aves de al menos algunos lotes representativos por edad para determinar la frecuencia y severidad de aftas ulcerativas en la cavidad oral.
- *Vigilancia serológica*. La industria adolece de carencia de programas de vigilancia serológica que incluya patógenos importantes sin limitarse a Newcastle e influenza aviar, ignorándose por ejemplo bronquitis infecciosa, Mycoplasma gallisepticum, encefalomielitis aviar y EDS76, todas ellas enfermedades o patógenos de primera importancia.

Seguimiento de calidad de producto.

- Parámetros de calidad física y organoléptica. Aunque estos parámetros no son competencia directa de los técnicos de campo, es potencialmente útil para ellos/ellas estar al tanto de cualquier alteración posible que directa o indirectamente se relacione con lo que ocurre en el campo.
- Parámetros de calidad microbiológica. La vigilancia de la calidad microbiológica se centra esencialmente en Salmonella spp., y más específicamente en al menos Salmonella enteritidis y S. typhimurium. Son pocas las empresas, y posiblemente ninguna, las que se preocupan por vigilar estos patógenos de importancia en salud pública.

En resumen, lejos de ser solo un experto en influenza aviar, enfermedad de Newcastle, micoplasmosis aviar y coriza infecciosa, el técnico de campo debe involucrarse profundamente en todos los aspectos de producción en los que existe una interfase entre genética, sanidad, nutrición y alimentación, manejo de aves, bienestar animal, inocuidad de alimentos e incluso recursos humanos, aun cuando no se trate directamente de su responsabilidad.

ESTRATEGIAS NUTRICIONALES PARA MODULACIÓN DE PESO DE HUEVO EN EDAD AVANZADA Y SEGUNDOS CICLOS. UNA REVISIÓN DE LITERATURA

Hans Mann
Central Agrícola, Guatemala, Guatemala, CA.
hans.mann@centralagricola.com

1) Introducción:

Las ponedoras comerciales modernas de huevo blanco poseen un potencial genético de producción muy elevado y prolongado en diferentes sistemas de caseta y equipo y puede ser hasta más de 100 semanas en producción en un solo ciclo, sin tener que incurrir en una muda inducida. Los empresarios avícolas de huevos reconocen los resultados de la selección genética actuales en términos de persistencia creciente de la tasa de relación de puesta y conversión alimenticia. La producción de huevos es principalmente gracias a la mayor longitud del ciclo de puesta y a la mejora de la uniformidad de los lotes de ponedoras. Se ha generalizado que la ponedora moderna logra alrededor de 500 huevos en un ciclo, sin embargo, existen reportes de que esta producción ya ha sido superada por muchos lotes. Los ciclos largos de postura presentan una serie de retos para productores, nutriólogos, veterinarios y técnicos avícolas, dado que en este modelo productivo ocurre disminución del grosor del cascaron, aumento del tamaño del huevo y mortalidad durante el ciclo extendido. Dichos factores suelen ser limitantes para la rentabilidad de un lote de producción. La decisión de obtener un pico de producción elevado contra una mayor persistencia en la producción suele ser otro de los factores a tomar en cuenta con cada lote alojado en una granja de producción. La nutrición puede ayudar a minimizar algunos de los problemas en estos periodos largos de producción, sin embargo, no es el único factor para tomar en cuenta al momento del traslado e inicio de productividad de un lote, dado que las métricas obtenidas en el periodo de crianza influyen en la producción posterior de un lote.

2) Nutrición en el Periodo de Levante:

En los últimos 50 años, la capacidad de producción de huevos de por vida de las gallinas ponedoras ha aumentado enormemente de 220 huevos en 1960 a 500 huevos en 2019. Este aumento se ha logrado a través de la selección genética, un mejor manejo, mejores estrategias de alimentación y un desarrollo adecuado de las pollitas hasta las 17 semanas de edad. Sin embargo, aún no se comprende completamente cómo el desarrollo temprano contribuye a la producción de huevos. La mayoría de los estudios sobre el desarrollo de las pollitas se han centrado en alcanzar un peso corporal objetivo al final de la fase de cría, lo que se correlaciona positivamente con una mayor producción de masa de huevos a lo largo de la puesta. Además del peso corporal absoluto de las pollitas, también se debe considerar su composición corporal (proteína bruta, ceniza y grasa brutas) y, por lo tanto, la condición corporal. La proteína bruta se deposita en los músculos, tejidos esenciales y órganos, mientras que las cenizas se utilizan para las estructuras esqueléticas y la mayor parte de la grasa bruta se acumula en el tejido adiposo.
En el caso de las pollitas, posterior a la eclosión hasta aproximadamente la 5ª semana de edad, las vísceras, la estructura ósea y las plumas exhiben un desarrollo más rápido en comparación con otros tejidos, y solo después de dicho período, el desarrollo del tejido muscular comienza a representar la mayor parte del crecimiento corporal, seguido por el desarrollo de los órganos reproductivos en las cuatro semanas que preceden a la edad en que se pone el primer huevo (Silva y cols 2015). Al considerar el crecimiento corporal, es importante tener en cuenta que dicho fenómeno está representado por la suma de los componentes químicos proteína, agua, lípidos y cenizas, cuya deposición en el cuerpo y las plumas asume diferentes velocidades a medida que las aves crecen. Como un intento de predecir el crecimiento animal, se desarrollaron varias funciones matemáticas; sin embargo, como destacan Wellock y cols (2004), la función de Gompertz es el predictor de crecimiento más adecuado debido a la simplicidad y significados biológicos de sus parámetros. Emmans (1987) sugirió tomar mediciones seriadas y consecutivas del peso de las aves o de su composición química en condiciones no restrictivas de ambiente y nutrición. Sin embargo, como medio para cumplir con tal propósito, diferentes individuos de una población deben ser sacrificados para su posterior análisis químico.

El tejido adiposo es importante para mantener el equilibrio energético corporal y puede funcionar como reserva cuando la ingesta de nutrientes no es suficiente para satisfacer las necesidades energéticas de la gallina (Barboza y Hume, 2006), por ejemplo, durante el pico de producción de huevos. Por lo tanto, un nivel mínimo actualmente desconocido de tejido adiposo al comienzo de la puesta podría ser beneficioso para apoyar la producción. Por otro lado, se ha demostrado que las pollitas con una condición de alta grasa corporal al inicio de la puesta han reducido las tasas de puesta posteriores y el peso de los huevos a lo largo de la fase de puesta. Por lo tanto, el porcentaje de grasa corporal de las pollitas podría tener un nivel óptimo, después de lo cual la producción de huevos se ve afectada negativamente. La condición de grasa corporal puede ser alterada a través de la nutrición y en general, una mayor ingesta de proteínas y energía aumenta el peso corporal de las pollitas y la producción de masa de huevos. El efecto de la ingesta de nutrientes en el crecimiento de la composición corporal no se midió en estos experimentos y no se ha estudiado en pollitas modernas. En las pollitas reproductoras de pollos de engorde, un mayor peso corporal también da lugar a mayores porcentajes de grasa corporal. Además, una menor proporción de proteína bruta en la dieta a energía durante la cría causó un porcentaje de grasa corporal significativamente mayor a las 20 semanas de edad. Las pollitas reproductoras de pollos de engorde se alimentan de forma restringida para ganar pesos corporales similares, por lo que estos resultados no son directamente aplicables a las pollitas de gallinas ponedoras alimentadas ad libitum, que también tienen un menor potencial de crecimiento. Sin embargo, indica que una menor ingesta de proteína cruda con una ingesta de energía similar da como resultado una mayor deposición de grasa. También la densidad de la dieta influye en la composición corporal en pollitas reproductoras de pollos de engorde, con mayores porcentajes de grasa corporal al final de la recría cuando se alimentan dietas con una mayor densidad (tanto energética como lisina, alimentadas en la misma proporción) (de los Mozos y cols 2017).

Mucho se ha escrito sobre el programa de alimentación adecuado para lograr pollitas listas para poner que resultarán en parvadas ponedoras rentables. Una serie de factores que pueden tener una marcada relación con el rendimiento y la rentabilidad de un lote una vez en la caseta de ponedora son los que más influyen. El objetivo de un buen programa de cría es garantizar una polla a las 15 semanas de edad con el peso adecuado y al menos un mínimo de 88% a 90% de uniformidad. Esto da como resultado una adecuada madurez sexual que conduce a tasas más altas de producción, huevos más grandes y menos mortalidad en la caseta de puesta. Los programas de vacunación y manejos requeridos pueden ser limitantes para alcanzar dichos objetivos. En experimentos realizados se ha demostrado que las aves en el periodo hasta las 11 semanas tienen a requerir mayor cantidad de proteína (balance de aminoácidos ileales estandarizados) y posteriormente una dieta más rica en energía.

Así mismo, durante los últimos años, se ha hecho cada vez más evidente que las pollitas están alcanzando su pico de producción al menos 2 a 4 semanas antes que en años anteriores. Es así como los productores ahora buscan pollitas que maduren temprano, alcancen su punto máximo a una alta tasa de producción, tengan un buen tamaño de huevo y pongan de 10 a 15 huevos más durante el ciclo normal de puesta. Por lo tanto, se debe adoptar un enfoque diferente para la crianza de pollitas hoy si se quieren lograr los objetivos anteriores en la caseta de ponedora adulta. Uno de los principales factores que influyen en el tamaño de los huevos, la mortalidad durante el periodo de postura extendido y la ingesta de alimento es el tamaño y la uniformidad corporal al inicio de la postura. Sin embargo, dentro de ciertos límites, el tamaño corporal tiene poca influencia en el porcentaje de producción de huevos (Sing y Nordskog, 1982; Bish y cols 1984, 1985). Las pollitas tipo Leghorn blanco pueden ser alimentadas con dietas que varían en el nivel de energía o grasa dietética añadida, pero aun así tener valores similares de composición de la canal a las 20 semanas de edad. Por lo tanto, parecería que hay una composición de canal mínima requerida para la madurez sexual o en el punto de puesta que la pollita debe alcanzar antes del inicio de la producción. El trabajo de Bornstein y cols (1984) con reproductoras de pollos de engorde mostró que alcanzar un cierto porcentaje de grasa corporal parecía ser un criterio importante para iniciar el inicio de la producción. Sin embargo, estos trabajos de investigación han demostrado que también parece haber un requerimiento crítico de masa corporal magra. Por lo tanto, cada vez está más claro que lo que se requiere para una pollita rentable hoy en día es una que alcance un peso corporal particular con una composición corporal particular en el momento de la puesta, independientemente de la edad. De hecho, existe un umbral específico de peso corporal para el inicio de la producción de cada estirpe de ponedoras comerciales.

Se examinaron los efectos del espacio de alimentación en el crecimiento de pollitas ponedoras comerciales criadas en jaulas o corrales de piso asignando pollitos de 1 día de edad a jaulas (14 pollitos) o al piso (119 pollitos) por Anderson y Adams (1994). Los espacios de alimentación fueron de 5.4, 4.0 y 2.7 cm por pollita y se mantuvieron constantes durante todo el período de crecimiento, lo que resultó en un arreglo factorial de 2 × 3. Se midió el peso corporal de las pollitas, el consumo de alimento, el desarrollo esquelético y el miedo a lo largo del período de cría hasta las 18 semanas. Las pollitas a las que se les permitió 5.4 cm de espacio de alimentación fueron más pesadas ($P < .001$) (1,329 g a las 18 semanas de edad) que las aves a las que se les permitió 4.0 o 2.7 cm de espacio de alimentación (1,289 y 1,272 g, respectivamente). Las pollitas criadas en el suelo pesaron significativamente más a las 12, 16 y 18 semanas de edad que las pollitas criadas en jaulas. El consumo de alimento no se vio afectado por el espacio de alimentación, pero las aves criadas en el piso consumieron más alimento ($P < .001$) que las que estaban en jaulas (61.2 vs 52.8 g por pollita por día). La mortalidad, el desarrollo esquelético y la resistencia ósea no se vieron afectados ni por el espacio de alimentación ni por la cría en el suelo frente a la cría en jaulas. Las pollitas criadas en el suelo tuvieron una mayor duración ($P < .05$) de la inmovilidad tónica (TI) que las criadas en jaulas (519.7 y 471.4 s, respectivamente, medido a las 18 semanas). El espacio de alimentación por pollita no tuvo ningún efecto sobre la duración de la TI de las pollitas. Los entornos de cría en jaulas y en el suelo son comparables para la cría de pollitas, siempre que el espacio del comedero no esté restringido hasta el punto de inhibir el peso corporal.

Summers y cols (1987) llevaron a cabo una serie de experimentos con pollitas White Leghorn para determinar el efecto de la dieta y el tratamiento de crecimiento sobre el peso corporal y la composición de la canal durante 16 semanas. Independientemente del nivel de energía de la dieta, el aumento de peso corporal y la composición de la canal parecían estar estrechamente correlacionados con la ingesta de energía de las pollitas. Las dietas tan bajas como el 15% de proteína con y sin suplementación con metionina dieron como resultado pesos corporales de 16 semanas similares a los de los animales alimentados con dietas que contenían un 21% de proteína, lo que sugiere que la proteína no es un nutriente crítico que influya en el aumento de peso de las pollitas. Las pollitas alimentadas ad libitum cada dos días de 12 a 16 semanas de edad fueron significativamente más ligeras a las 16 semanas que las pollitas alimentadas completamente con una dieta de crecimiento o la dieta regulares diluida con un 20% de cáscaras de avena. Las pollitas deben alcanzar un cierto peso corporal y composición de la canal para desencadenar el inicio de la producción. La energía dietética, no la proteína, parece ser el nutriente crítico involucrado.

A las 16 semanas de edad, las pollitas White Leghorn fueron alimentadas con una dieta de puesta de harina de maíz y soja con un 17% de proteínas, la misma dieta diluida con un 15% de cáscaras de avena, o una dieta similar con nutrientes importantes aumentados en aproximadamente un 15%. Se observó poca diferencia en la edad de madurez sexual o en el rendimiento reproductivo entre cualquiera de los tratamientos dietéticos. En un segundo experimento, las pollitas alimentadas con dietas que contenían niveles similares de energía, pero con un 20 o un 14% de proteína (desde la eclosión hasta las 16 semanas de edad) mostraron una disminución en el peso corporal más allá de las 8 semanas de edad. Las pollitas parecieron exhibir un apetito por proteínas hasta las 8 semanas de edad, pero después de 8 semanas la ingesta de alimento se redujo con la dieta baja en proteínas. A las 16 semanas de edad, las pollitas se sometieron a dietas ponedoras que contenían 17 o 13% de proteína y 2.600 frente a 2.900 kcal de EM/kg de dieta, establecidas en un arreglo factorial. No hubo efectos de arrastre de la dieta del productor a las 16 semanas de edad sobre el rendimiento de la puesta posterior. Sin embargo, las gallinas hasta las 55 semanas de edad produjeron un número similar de huevos, pero más pesados cuando se alimentaron con una dieta de 17 frente a una dieta de 13% de proteínas, mientras que no se observó ninguna diferencia en la producción o el tamaño de los huevos con dietas que contenían 2.600 frente a 2.900 kcal de EM/kg de dieta. Los datos actuales confirman que las grandes diferencias en los programas de cultivo pueden producir un rendimiento similar en el gallinero, siempre que se alcance un peso de pollitas "maduras" antes del inicio de la producción. La energía dietética, no las proteínas, es el principal factor que controla la ingesta de alimento de las pollitas y las gallinas ponedoras. Sin embargo, hay un período justo antes del pico de producción de huevos durante el cual las gallinas no son muy precisas en comer a un apetito energético particular. Además, durante este período temprano

de producción, las variaciones en la densidad de la dieta parecen tener una influencia limitada en la tasa de producción o el peso del huevo (Summers y Leeson 1993).

Leeson y cols (1993) realizaron tres ensayos para cuantificar el crecimiento de pollitas de la estirpe de huevo marrón hasta los 126 días de edad cuando se alimentaron con dietas de diferentes concentraciones de energía, proteínas o lisina. Las aves se cultivaron en jaulas de 60 × 50 cm con 12 aves por jaula (0 a 42 días) o seis aves por jaula (42 a 126 días). El ensayo 1, en el que se utilizaron ocho repeticiones por tratamiento, incluyó dietas convencionales para pollitas o dietas formuladas para satisfacer únicamente las necesidades de metionina y lisina, sin restricciones en la proteína cruda formulada a dos niveles energéticos. Tanto las cepas de huevo blanco como las de huevo marrón fueron más pequeñas ($P < 0,01$) cuando se alimentaron con dietas formuladas solo con requerimientos de metionina y lisina. Cuando se utilizaron dietas altas en energía, las pollitas de huevo claro, pero no las de huevo marrón, exhibieron una depresión de crecimiento comparable ($P < 0,01$) en respuesta a la ingesta de aminoácidos. En el Ensayo 2, las pollitas de huevo marrón fueron alimentadas con dietas que variaban en energía (2.500 o 3.000 kcal EM/kg) y proteína bruta (15 a 21,5%). Se probaron cuatro tratamientos dietéticos cada uno con siete grupos replicados de 12 pollitas enjauladas. Los resultados confirman la aparente respuesta refractaria a la ingesta de alimento del ave de huevo marrón a la variación de la densidad energética de la dieta. Solo durante el período de crecimiento de 84 a 126 días, las aves se comportaron de la manera clásica de comer menos alimento ($P < .01$) cuando se les ofrecieron dietas más altas en energía. El ensayo 3 involucró la respuesta del crecimiento a niveles graduados de lisina en la dieta. Las pollitas alimentadas con lisina de .68 a .98% mostraron un aumento de peso máximo a los 42 días, mientras que después de 84 días, la lisina de la dieta de .38 a .86% no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento. Se concluyó que la pollita de huevo marrón es menos refractaria que la pollita de Livorno en términos de ajustar la ingesta de alimento a la concentración de energía dietética.

Pfaff y Austic (1976) comentan que, el tejido adiposo se puede desarrollar por hiperplasia durante el crecimiento de la pollita hasta aproximadamente las 12 a 15 semanas de edad. La alimentación con dietas bajas en energía o altas en proteínas, que limitaron la acumulación de tejido adiposo, pareció retrasar el momento en que cesó el crecimiento hiperplásico, pero no alteró la celularidad de la almohadilla de grasa abdominal en la madurez. Aunque el crecimiento hipertrófico ocurrió a lo largo del desarrollo de la almohadilla de grasa abdominal, fue más pronunciado después de la semana 7; Estaba deprimido por dietas bajas en energía o altas en proteínas. En dos experimentos, las diferencias persistieron después de que las pollitas previamente alimentadas con una dieta baja en energía o alta en proteínas habían sido alimentadas con una dieta de control durante varias semanas. En un experimento, los pollitos alimentados con la dieta baja en energía hasta las 9,5 semanas tenían almohadillas de grasa de tamaño reducido a las 22 semanas de edad. Además, las almohadillas de grasa eran similares en tamaño a las de los pollitos alimentados con la dieta baja en energía desde la eclosión hasta las 22 semanas. En un segundo experimento, las pollitas mantuvieron las diferencias en el peso de la almohadilla de grasa a lo largo de 19 semanas de producción de huevos, durante las cuales todos los grupos recibieron la misma dieta. Estos resultados sugieren que la adiposidad en la pollita puede estar influenciada por el tratamiento nutricional durante el período de crecimiento y desarrollo previo a la madurez sexual.

Por otro lado, si el objetivo es retrasar la madurez sexual de las pollitas en crecimiento ya sea restringiendo la ingesta calórica o alimentándolas con una dieta deficiente en uno o más aminoácidos esenciales. Los métodos se han clasificado como (a) limitar el tiempo de acceso de las pollas al alimento, (b) restricción cuantitativa de alimentos, (c) el uso de dietas bajas en energía y (d) restricción de proteínas dietéticas. La restricción alimentaria al limitar el tiempo de acceso a los alimentos ha dado resultados inconsistentes y es una técnica insatisfactoria. Las pollas aprenden rápidamente a comer cantidades normales de alimento balanceado en un espacio de tiempo muy corto. La restricción cuantitativa de alimentos se ha utilizado ampliamente en experimentos y generalmente se aplica desde aproximadamente las 6 hasta aproximadamente las 20 semanas de edad. La evidencia disponible permite establecer relaciones entre el grado de restricción alimentaria y el peso corporal posterior y la madurez sexual. También se examina el efecto del tratamiento de cría sobre la mortalidad y la tasa de puesta. La alimentación ad libitum de una dieta de cultivo baja en energía siempre ha resultado en mayores costos de alimentos para la cría. Esto se debe a que las reducciones moderadas en el contenido energético de la dieta se compensan con una mayor ingesta de alimentos. Las dietas lo suficientemente bajas en energía como para

provocar una reducción en la ingesta de calorías implicarán la manipulación de proporciones muy grandes de material no nutritivo. El uso de dietas deficientes en proteínas durante el período de crecimiento, o a partir del día de edad, ofrece un medio adecuado para retrasar la madurez sexual. Los efectos de este tratamiento son aparentemente muy similares a los de la alimentación restringida, pero faltan comparaciones adecuadas de los métodos alternativos (Lee y cols 1971).

El rendimiento de pollas (Leghorn × Rhode Island Red) a los que se les restringió la alimentación durante el período de prepuesta se estudió en dos ensayos, cada uno realizado con 300 gallinas por Hurwitz y Plavnik (1989). En el Ensayo 1, los tratamientos incluyeron 1) un control alimentado ad libitum; 2) restricción para un crecimiento cercano a cero entre los 7 y los 28 días de edad; 3) la misma restricción que (2) pero continuada por la restricción del crecimiento del 50% hasta 70 días; 4) restricción entre 7 y 70 días para un crecimiento del 50%; y 5) restricción para un crecimiento del 50% entre 7 y 98 días. En el Ensayo 2, las aves fueron restringidas severamente (crecimiento cercano a cero) de 7 a 28 días de edad, seguido de una restricción del 50% de crecimiento hasta los 28, 56, 84 y 112 días de edad, respectivamente. En todos los casos, la restricción alimenticia resultó en un retraso en el inicio de la producción de huevos, lo que llevó a algunos aumentos en el peso del huevo. La tasa de producción de huevos y la producción acumulada no se vieron afectadas, en la mayoría de los casos, por la restricción temprana de alimento. El peso corporal al inicio y después de 20 meses de producción se redujo cuando la restricción de alimento se continuó más allá de los 84 días de edad. La conversión alimenticia general (gramos de alimento por huevo) y la eficiencia alimenticia (gramos de alimento por gramo de masa de huevo) no se vieron afectadas significativamente por la restricción alimenticia, aunque la eficiencia alimenticia (ganancia de gramos por gramo de alimento) mejoró durante el período previo a la puesta. Dentro de cada tratamiento, el peso corporal se correlacionó positivamente con la edad de inicio de la producción de huevos. El peso del huevo fue una función tanto de la edad como del peso corporal al inicio de la producción. La correlación significativa entre el peso del huevo y el peso corporal se mantuvo incluso después de un año de producción.

Fawcett y cols (2020) reportan que hay pocos estudios publicados sobre el efecto de la densidad de población (DE) de las pollitas, particularmente entre diferentes líneas genéticas en las casetas avícolas. Las pollitas Lohmann Selected Leghorn Lite (LSL), Dekalb White (DW) y Lohmann Brown (LB) se criaron en 4 diferentes densidades de alojamiento (247 cm2/ave, 270 cm2/ave, 299 cm2/ave y 335 cm2/ave) en jaulas grandes con perchas elevadas y una plataforma. A las 16 semanas de edad, se recolectaron el hueso de la quilla, los músculos del pecho, las alas y las piernas, y los huesos largos de las alas y las patas para comparar el desarrollo del hueso de la quilla, el crecimiento muscular y la resistencia a la rotura ósea (BBS) entre la tensión, ajustada por el peso corporal y los tratamientos de densidad . La densidad de población no tuvo efecto sobre la longitud, la altura o el área del meta esternón del hueso de la quilla, los pesos del bíceps braquial, el pectoral mayor o el pectoral menor, ni el BBS de ninguno de los huesos seleccionados. Sin embargo, se encontraron diferencias de deformación para todas las características del hueso de la quilla, todos los pesos musculares y la mayoría de las medidas de BBS. Se encontró que el meta esternón de la quilla, la altura y el área total del hueso de la quilla eran más pequeños en las pollitas LB en comparación con las pollitas LSL y DW ($P < 0,0001$); sin embargo, la longitud del cartílago y el porcentaje total del cartílago presente en el hueso de la quilla fue mayor en las pollitas LB ($P < 0,0001$). Los músculos de las patas fueron más pesados en las pollitas LB ($P < 0,05$); sin embargo, los músculos mamarios fueron más pesados en las pollitas LSL y DW ($P < 0,0001$). Las pollitas Lohmann Brown tuvieron menor BBS de la tibia ($P < 0.0001$) y fémur ($P < 0.0001$) en comparación con las pollitas LSL y DW, mientras que las pollitas DW tuvieron mayor BBS del húmero ($P = 0.033$). Además, hubo una mayor prevalencia de fracturas de hueso de la quilla a las 50 semanas de edad en gallinas LB en comparación con DW ($P = 0,0144$). En general, la densidad de alojamiento durante la cría utilizada en este estudio tuvo poco impacto en el crecimiento musculoesquelético de las pollitas; sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre las estirpes que pueden reflejar el comportamiento específico de la cepa. Además, las diferencias en el desarrollo del hueso de la quilla entre las estirpes pueden dar lugar a diferencias en el daño del hueso de la quilla en las gallinas adultas.

Comprender el efecto de la nutrición en las curvas de crecimiento de las pollitas y la composición corporal puede ayudar a diseñar nuevas estrategias de alimentación que influyan en la composición corporal y el rendimiento de la puesta a largo plazo. o examinó el efecto de la densidad de nutrientes (energía metabolizable baja, media o alta

y aminoácidos esenciales), alimentados en la fase de cría hasta las 17 semanas de edad, sobre el crecimiento de la pollita blanca W80 Hy-Line, el desarrollo de la composición corporal y el rendimiento de la producción de huevos hasta la semana 35. Los datos se sometieron a análisis de modelos mixtos. Para determinar una relación alométrica multifásica entre los componentes corporales, se estableció una curva de crecimiento global y se determinaron los puntos de inflexión. El mayor peso lineal al final de la fase de cría, debido al aumento de la densidad de la dieta, se mantuvo durante la fase de máxima producción hasta la semana 35. Los parámetros de producción de huevos no se vieron afectados por la densidad de la dieta de cría. Los porcentajes de proteína bruta de mama y cuerpo no se vieron influenciados por los tratamientos dietéticos, mientras que los porcentajes de grasa bruta corporal y almohadilla de grasa abdominal aumentaron linealmente con la densidad de la dieta desde edades tempranas en adelante. La proteína bruta corporal se depositó inicialmente a la misma velocidad que la materia seca corporal. En una segunda fase de crecimiento a partir de la semana 12, la deposición de proteína bruta fue menor que la deposición de materia seca corporal, pero no fue influenciada por la dieta de cría. La grasa cruda corporal, por otro lado, creció inicialmente a una tasa menor que la materia seca corporal, pero aumentó en la tasa de deposición durante una segunda fase de crecimiento que comenzó en la semana 2 a la 5. Las pollitas alimentadas con la dieta de alta densidad mostraron una mayor deposición de grasa bruta frente a la materia seca en comparación con las pollitas alimentadas con las dietas de densidad media en la primera fase hasta la semana 2, pero exhibieron una menor deposición de grasa cruda en la segunda fase hasta la semana 8. Estos resultados indican que hasta aproximadamente la semana 12, la deposición de proteína cruda fue la principal impulsora del crecimiento y no estuvo influenciada por la densidad de la dieta. A partir de la semana 5 a la 6, la deposición de grasa bruta en relación con la deposición de proteína aumentó y esto estuvo influenciado por la densidad de la dieta desde una edad temprana.

Regmi y cols (2015) reportan que los sistemas de alojamiento alternativos para gallinas ponedoras proporcionan carga mecánica y ayudan a reducir la pérdida ósea. Además, lograr un mayor pico de masa ósea durante la fase de pollita puede ser crucial para prevenir fracturas en el período de producción. Se han estudiado tibias y húmeros de pollitas White Leghorn criadas en jaulas convencionales (CC) y un sistema de aviario libre de jaulas (AV). A las 16 semanas, 120 aves al azar de cada sistema de alojamiento fueron sacrificadas. Se recogieron las tibias derecha e izquierda y los húmeros y se analizaron más a fondo. La densidad y el grosor del hueso cortical se midieron mediante tomografía computarizada. Se midieron las dimensiones perióstica y endosteal en el sitio de la fractura durante las pruebas mecánicas. A las 4, 8, 12 y 16 semanas, se analizaron las concentraciones séricas de osteocalcina e hidroxilisil piridinolina como marcadores de formación y resorción ósea. La densidad ósea cortical fue mayor ($P < 0,05$) en los húmeros de las pollitas AV, y las tibias fueron más densas ($P < 0,05$) para las pollitas AV en la sección distal del hueso en comparación con las pollitas CC. El contenido de cenizas fue mayor ($P < 0.05$) en los húmeros AV sin diferencias en el contenido de cenizas de tibias. Las tibias y los húmeros de las pollitas AV tenían una corteza más gruesa que las pollitas CC ($P < 0,05$). Además, las tibias y los húmeros de las pollitas AV tuvieron mayor ($P < 0.05$) segundo momento de áreas que las pollitas CC. Si bien algunas propiedades del material óseo entre los grupos fueron diferentes ($P < 0,05$), las diferencias fueron tan pequeñas (< 7%) que probablemente no tengan importancia clínica. Las concentraciones séricas de osteocalcina no fueron diferentes entre los tratamientos, pero las concentraciones de hidroxisilpiridinolina fueron mayores en las pollitas CC a las 12 semanas en comparación con las pollitas AV y el efecto se revirtió a las 16 semanas ($P < 0,05$). Estos hallazgos indican que las tibias y los húmeros responden de manera diferente a las actividades de carga durante el crecimiento. La mejora de la capacidad de carga y la rigidez en los huesos de las pollitas AV se relacionaron con el aumento de la geometría de la sección transversal.

Comprender el efecto de la nutrición en las curvas de crecimiento de las pollitas y la composición corporal puede ayudar a diseñar nuevas estrategias de alimentación que influyan en la composición corporal y el rendimiento de la puesta a largo plazo. Por lo tanto, este estudio examinó el efecto de la densidad de nutrientes (energía metabolizable baja, media o alta y aminoácidos esenciales), alimentados en la fase de cría hasta las 17 semanas de edad, sobre el crecimiento de la pollita blanca W80 Hy-Line, el desarrollo de la composición corporal y el rendimiento de la producción de huevos hasta la semana 35. Los datos se sometieron a análisis de modelos mixtos. Para determinar una relación alométrica multifásica entre los componentes corporales, se estableció una curva

de crecimiento global y se determinaron los puntos de inflexión. El mayor peso lineal al final de la fase de cría, debido al aumento de la densidad de la dieta, se mantuvo durante la fase de máxima producción hasta la semana 35. Los parámetros de producción de huevos no se vieron afectados por la densidad de la dieta de cría. Los porcentajes de proteína bruta de mama y cuerpo no se vieron influenciados por los tratamientos dietéticos, mientras que los porcentajes de grasa bruta corporal y almohadilla de grasa abdominal aumentaron linealmente con la densidad de la dieta desde edades tempranas en adelante. La proteína bruta corporal se depositó inicialmente a la misma velocidad que la materia seca corporal. En una segunda fase de crecimiento a partir de la semana 12, la deposición de proteína bruta fue menor que la deposición de materia seca corporal, pero no fue influenciada por la dieta de cría. La grasa cruda corporal, por otro lado, creció inicialmente a una tasa menor que la materia seca corporal, pero aumentó en la tasa de deposición durante una segunda fase de crecimiento que comenzó en la semana 2 a la 5. Las pollitas alimentadas con la dieta de alta densidad mostraron una mayor deposición de grasa bruta frente a la materia seca en comparación con las pollitas alimentadas con las dietas de densidad media en la primera fase hasta la semana 2, pero exhibieron una menor deposición de grasa cruda en la segunda fase hasta la semana 8. Estos resultados indican que hasta aproximadamente la semana 12, la deposición de proteína cruda fue la principal impulsora del crecimiento y no estuvo influenciada por la densidad de la dieta. A partir de la semana 5 a la 6, la deposición de grasa bruta en relación con la deposición de proteína aumentó y esto estuvo influenciado por la densidad de la dieta desde una edad temprana (van Eck y cols 2024).

Doran y cols (1983) compararon cuatro sistemas de alimentación de pollitas tipo huevo para la producción de pollitas tipo huevo. Los regímenes dietéticos consistieron en un programa de alimentación de alta energía y proteínas reducidas; un programa de reducción de proteínas y baja energía; un programa de proteínas y alta energía; o un programa de proteínas de bajo consumo energético. A los 150 días de edad, todas las pollitas se alojaron 2 aves por jaula de puesta de 25,4 × 45,7 cm y se alimentaron con una dieta de ponedoras estándar (16% de proteína). El experimento utilizó 2880 aves criadas en piso en una caseta de crianza convencional. A los 140 días de edad, las aves sometidas a los programas de alimentación con proteínas eran 82 g más pequeñas en peso corporal medio, tenían una mortalidad más alta y consumían menos alimento que las aves en los programas de alimentación con proteínas reducidas. El peso corporal a los 140 días de edad fue de 1,17 y 1,09 kg para los programas de alimentación de disminución y aumento, respectivamente. Los niveles de energía administrados no tuvieron un efecto significativo sobre el peso de las pollitas, el alimento consumido o la mortalidad hasta los 140 días de edad. Durante la fase de puesta, las gallinas que habían estado en el programa de alimentación proteica gradual alcanzaron el 50% de producción 2.0 días antes que las aves sometidas al programa de alimentación proteica gradual. La producción de gallinas para los sistemas de alimentación de pollitas reductoras y escalonadas basada en registros de 308 días fue de 76.09 y 76.86%, respectivamente. La eficiencia alimenticia y el peso corporal maduro no se vieron afectados significativamente por los programas de alimentación de los productores. El mayor tamaño de huevo y la mayor mortalidad en el galpón de puesta se observaron en gallinas cultivadas con el programa de alimentación proteica gradual.

AVEM Aviespecialistas de México

3) Nutrición en el Periodo de Postura:

Los huevos constituyen una de las fuentes más asequibles de proteína animal disponibles, por lo que no es sorprendente que el número de parvadas de ponedoras esté aumentando rápidamente en países en desarrollo. En Europa, la prioridad es aumentar la producción de huevos mediante la cría para aumentar la persistencia en la puesta y la estabilidad en la calidad de los huevos, de modo que el ciclo de puesta de las parvadas comerciales pueda extenderse a 90-100 semanas. Aunque hacer que las gallinas pongan durante más tiempo puede no recibir la aclamación universal de quienes se oponen a las prácticas avícolas actuales, parece ser el enfoque más lógico para la utilización eficiente de los recursos, ya que los beneficios son tanto financieros como ambientales. Por ejemplo, estimamos que incluso 25 huevos más por gallina podrían reducir los lotes alojados en una granja avícola por año. Los ahorros potenciales resaltan los beneficios ambientales de una reducción en el lote de reproductores requeridos para obtener en número de gallina comerciales necesarias para un volumen de huevos, así como la reducción obvia de los alimentos balanceados necesarios para mantener a estas gallinas. En el frente ambiental, se calculó que se podría ahorrar alrededor de 1 g de nitrógeno por docena de huevos para un aumento de 10

semanas en la producción. Esto reduciría considerablemente el impacto de la nitrificación del aumento o mantenimiento de la producción.

Las empresas de mejoramiento genético avícola afirman que habrán desarrollado la ponedora de "larga vida" que será capaz de producir 500 huevos en un ciclo de producción de 100 semanas para el año 2020 (Van Sambeek, 2010). Este objetivo se está logrando mediante programas de selección que basan sus decisiones en una triangulación de la evaluación fenotípica de líneas puras que se extiende más allá de las 55 semanas, pruebas de progenie cruzada, que ahora se está llevando a cabo en diversas condiciones en todo el mundo e información genotípica derivada de marcadores de ADN, como microsatélites y SNP, que han sido validados para mostrar una asociación con rasgos fenotípicos (O'Sullivan, 2009).

Sin embargo, cualquier mejora en la persistencia en la puesta también debe ir de la mano con una calidad sostenible de los huevos y las aves deben permanecer sanas durante todo el período de producción. Una disminución en el número de huevos, combinada con un deterioro en la calidad de la cáscara, son las principales razones para reemplazar actualmente las parvadas a las 72 semanas de edad o alrededor de ellas. La mala calidad de la cáscara a las 72 semanas no significa que todas las gallinas de un lote de envejecimiento produzcan huevos de calidad reducida, sino que aumenta la variabilidad en la calidad de los huevos dentro del lote. Por lo tanto, el mantenimiento a largo plazo de los tejidos y órganos involucrados en la producción de huevos es un requisito previo para extender el ciclo de puesta de las parvadas comerciales (Dunn, 2013). Sin embargo, a pesar de una gran cantidad de investigaciones en esta área que abarcan más de 50 años, todavía ignoramos todos los procesos y mecanismos que controlan la complejidad de la formación del huevo, ni comprendemos completamente las propiedades funcionales de los componentes individuales del huevo, que están demostrando ser mucho más intrincados de lo que jamás imaginamos.

La osteoporosis sigue siendo uno de los principales desafíos de bienestar para la industria del huevo (Sandilands, 2011) y, por lo tanto, no puede ignorarse en ninguna discusión relacionada con la extensión del ciclo de puesta. En este sentido, la correcta nutrición a lo largo del ciclo de puesta es de suma importancia. Por lo tanto, los requisitos nutricionales de la ponedora de "larga vida" también deben evaluarse críticamente, ya que los resultados de los ensayos nutricionales realizados hace más de 20 años, cuando las aves producían menos huevos y pueden ya no ser directamente aplicables.

a. Descripción general del proceso de formación de huevos:

La producción casi diaria de un óvulo por parte de una ponedora comercial solo es factible debido al desarrollo simultáneo de una serie de folículos en el ovario izquierdo. Esto sigue una jerarquía definida con solo un folículo que alcanza la maduración dentro de cada período de 24 horas. Más de 12´000 ovocitos están presentes en el ovario en el momento de la eclosión, pero solo un pequeño porcentaje de ellos alcanzará la madurez. En la ovulación, la masa vitelina del folículo más grande es capturada por el extremo abierto en forma de embudo del oviducto proximal, el infundíbulo. A partir de aquí, desciende por el oviducto y sufre una deposición sucesiva de los diferentes componentes del huevo (Romanoff y Romanoff, 1949; Sauveur y De Reviers, 1988). Cada componente del huevo, la albúmina, las membranas y la cáscara, son secretadas por diferentes partes del oviducto de acuerdo con una secuencia predeterminada de eventos. Durante las primeras 4 horas, la albumina de huevo se forma en el magnum, la región más larga y glandular del oviducto. Las membranas de la cáscara se depositan a medida que la masa de huevos en formación pasa a través del istmo.

Cinco horas después de la ovulación, el óvulo entra en la glándula de la cáscara, donde pasa las siguientes 19 horas. Es durante este tiempo que se forma la cáscara. La formación de la cáscara del huevo ocurre en 3 fases distintas (Nys y cols 2004) y está regulada por la secreción temporal y espacial precisa de una compleja matriz de proteínas de la matriz orgánica, algunos de los cuales posteriormente se incorporan a la estructura calcificada modificando así sus propiedades biomecánicas (Hincke y cols 2012) y/o participan en sus defensas antimicrobianas. El tejido entretejido resultante de constituyentes orgánicos e inorgánicos forma las capas mamilares y empalizadas de la cascara.

En las últimas 1,5 horas y justo antes de la oviposición, se deposita el pigmento de la cáscara y finalmente la cutícula, que es una capa orgánica no calcificada de espesor variable. A continuación, el óvulo está listo para la oviposición. El momento y el proceso de oviposición están controlados por las hormonas neuro hipofisarias y las prostaglandinas secretadas por el ovario y, en menor medida, por la glándula de la cascaron (Nys y Guyot, 2011). Las gallinas normalmente ovulan y ovipositan de una a 7 horas después del amanecer cuando están en un programa de iluminación estándar de 14L:10D, por lo tanto, las gallinas ponen su huevo en las primeras horas del período de luz. La siguiente ovulación tiene lugar después de la expulsión del óvulo, pero también puede ocurrir justo antes de esto en algunos casos.

Gautron y cols (1997) reportan que los constituyentes orgánicos del líquido uterino, el medio acelular en el que se mineraliza la cáscara del huevo, se caracterizaron bioquímicamente en las etapas inicial, media y final de la calcificación de la cáscara en gallinas. Los perfiles electroforéticos de las proteínas cambiaron en las diferentes etapas de la mineralización de la cascaron. Dos bandas principales (glicoproteínas de 80 kDa y 43 kDa) con afinidad cálcica fueron específicas para la etapa inicial. Cuatro bandas proteicas de 180, 150, 116 y 32 kDa, presentes en la fase de rápida formación de la cáscara, coprecipitadas con carbonato de calcio in vitro. En esta etapa también estaban presentes una glicoproteína de unión al calcio de 36 kDa y una proteína de 20 kDa. El líquido uterino de la etapa final se caracterizó por una intensidad más oscura de la banda de 66 kDa, que mostró capacidad de unión al calcio y por la presencia de tres proteínas adicionales (72, 13 y 6 kDa). Al menos siete bandas del líquido uterino mostraron patrones de migración similares a los de los extractos de cáscara de huevo. La Western blot con ovocleidina y ovoalbúmina antisueros demostró la presencia de estas proteínas de la matriz en el líquido uterino recogido en la fase inicial y media, respectivamente. El líquido uterino total recogido al final de la calcificación y el líquido uterino dializado de las distintas etapas retrasaron la tasa de precipitación de calcio in vitro. Estas observaciones demuestran la presencia de precursores de la matriz de cáscara de huevo en el líquido uterino y apoyan la hipótesis de su participación en el proceso de mineralización de la cáscara de huevo.

El huevo calcáreo es producido por todas las aves y la mayoría de los reptiles. La comprensión actual de la formación y mineralización de la cáscara de huevo se basa principalmente en estudios intensivos de una especie: el pollo domesticado Gallus gallus. Se han identificado la mayoría de los componentes de la cáscara de huevo de gallina. En este artículo revisamos la microestructura y ultraestructura de la cáscara de huevo, y los resultados de los recientes análisis genómicos, transcriptómicos y proteómicos de la matriz de la cáscara de huevo de gallina para llamar la atención sobre áreas de incertidumbre actual, como el papel potencial del carbonato de calcio amorfo y la naturaleza específica de las moléculas que inician (nuclean) la formación de conos mamilares y terminan la calcificación de la capa de empalizada. La genómica y la proteómica comparativa de las aves sólo han sido posibles recientemente con la publicación del genoma de Taeniopygia guttata (pinzón cebra). Se espera que se produzcan nuevos avances rápidos con los genomas del pavo (Meleagris gallopavo) y el pato (Anas platyrhynchos), que se publicarán próximamente. Estos recursos permitirán avanzar rápidamente en los estudios comparativos de los constituyentes orgánicos de la cáscara de huevo aviar y sus implicaciones funcionales (Hincke y cols, 2012).

Buss y cols (2023) reportan que, los huevos de ave poseen una cáscara de huevo mineralizada con una membrana fibrosa subyacente suave. Estas capas de material disímiles desarrollaron con éxito una unión estructural entre sí como una estrategia de reproducción aviar conservada esencial para el desarrollo embrionario aviar, el crecimiento y la eclosión del polluelo. Para comprender cómo se adhieren las fibras orgánicas de la membrana al mineral de la cascara (calcita), se utilizaron imágenes multiescala en 3D, que incluyen rayos X y tomografía electrónica, junto con la segmentación de características basada en el aprendizaje profundo, para mostrar cómo se organizan y anclan las fibras de la membrana en el mineral de la cascara. Las fibras enteras se incrustan en el mineral a través de la microescala, mientras que las proyecciones minerales finas (gránulos/picos) se insertan en las superficies de las fibras a nanoescala, todo lo cual proporciona un área de superficie considerable y un anclaje multiescala en la interfaz orgánico-inorgánica entre la membrana fibrosa y la cáscara. Este sistema de anclaje recíproco que se produce en

dos escalas de longitud diferentes entre las fibras orgánicas y el mineral inorgánico proporciona un mecanismo de unión seguro para la integridad de la cáscara de huevo aviar en dos materiales diferentes.
La mineralización de la cáscara de huevo aviar es el proceso de calcificación biogénica más rápido conocido en la naturaleza, tal como reportado por Rodriguez-Navarro y cos (2915). Cómo se logra esto mientras se produce un material altamente cristalino compuesto de grandes cristales individuales columnares de calcita sigue siendo en gran parte desconocido. Aquí informamos que el mineral de cáscara de huevo se origina a partir de la acumulación de partículas de carbonato de calcio amorfo (ACC) en forma de disco plano en sitios orgánicos específicos de la membrana de la cáscara de huevo, que son ricos en proteínas y proteoglicanos sulfatados. Estas estructuras, conocidas como núcleos mamilares, promueven la nucleación y estabilización de un carbonato de calcio amorfo con orden calcítico de corto alcance, que predetermina la composición de calcita de la cáscara del huevo maduro. La naturaleza amorfa de la fase precursora fue confirmada por la dispersión difusa de rayos X y electrones. El incipiente orden calcítico de corto alcance de esta fase mineral transitoria fue revelado por espectroscopia infrarroja y HRTEM. El mineral ACC depositado alrededor de los sitios del núcleo mamilar se transforma progresivamente directamente en cristales de calcita sin que se produzca ninguna fase intermedia. Los datos de especiación iónica sugieren que el líquido uterino está equilibrado con carbonato de calcio amorfo, a lo largo de la duración del proceso de mineralización de la cáscara de huevo, lo que respalda que esta fase mineral se forma constantemente en el frente de mineralización de la cáscara. Por otro lado, los depósitos minerales amorfos transitorios de carbonato de calcio, así como los cristales de calcita en los que se convierten, se forman por la agregación ordenada de nanopartículas que soportan la rápida mineralización de la cáscara del huevo. Los resultados de este estudio alteran nuestra comprensión actual de la calcificación de la cáscara de huevo aviar y proporcionan nuevos conocimientos sobre la génesis y formación de biominerales de carbonato de calcio en vertebrados.
Dado que, la cáscara de huevo aviar es una envoltura protectora natural que se basa en el fenómeno de la biomineralización para su formación. La cáscara está hecha de carbonato de calcio en forma de calcita, que contiene cientos de proteínas que interactúan con la fase mineral controlando su formación y organización estructural, y así determinar las propiedades mecánicas del biomaterial maduro. Describimos su mineralogía, estructura y las interacciones reguladoras que integran los constituyentes minerales y orgánicos durante la biomineralización de la cáscara del huevo. Cuerpo principal. Destacamos la evidencia reciente de la transferencia vesicular de carbonato de calcio amorfo (ACC), como una nueva vía para asegurar el suministro activo y continuo de los iones necesarios para la mineralización del cascaron. Actualmente se han identificado más de 900 proteínas y miles de transcripciones reguladas al alza durante la formación de la cáscara de huevo de gallina. Las predicciones bioinformáticas abordan su funcionalidad durante el proceso de biomineralización. Además, describimos la cuantificación de proteínas de matriz para comprender su papel durante los eventos clave regulados espacial y temporalmente de la mineralización de la cascara. Finalmente, se propone un esquema actualizado con un escenario global que abarca los mecanismos de mineralización de la cáscara de huevo aviar. Con este gran conjunto de datos a mano, ahora debería ser posible determinar motivos, dominios o proteínas específicas y secuencias peptídicas que realizan una función crítica durante la biomineralización de la cáscara de huevo aviar. La integración de esta información con datos genómicos (polimorfismos de un solo nucleótido no sinónimos) y el fenotipado preciso (parámetros biomecánicos de la cáscara) en líneas seleccionadas puras conducirá a características de cáscara de huevo de mejor calidad para mejorar la seguridad alimentaria. Esta información también abordará la cuestión de cómo las proteínas de la matriz de la cáscara de huevo de gallina optimizadas evolutivamente afectan y regulan la mineralización del carbonato de calcio como un buen ejemplo de diseño de materiales biomiméticos y bioinspirados (Gautron y cols 2021).
El carbonato cálcico amorfo (ACC) es una fase mineral inestable, que se transforma progresivamente en aragonito o calcita en la biomineralización del cascaron de invertebrados marinos o cáscaras de huevo de aves, respectivamente, como reportan Stapane y cols (2020). Previamente hemos propuesto un modelo de transporte vesicular para proporcionar ACC estabilizado en el líquido uterino de pollo donde tiene lugar

la mineralización de la cáscara del huevo. En este artículo, informamos de un mayor apoyo experimental para este modelo. Confirmamos la presencia de vesículas extracelulares (VE) mediante EM de transmisión y mostramos altos niveles de ARNm de marcadores vesiculares en los segmentos del oviducto donde se produce la mineralización de la cáscara de huevo. También demostramos que los VE contienen ACC en el líquido uterino mediante análisis espectroscópico. Además, la proteómica y la inmunofluorescencia confirmaron la presencia de las principales proteínas vesiculares, específicas de la mineralización y de la matriz de la cáscara de huevo en el útero y en las VE purificadas. Proponemos un papel integral de los EV en la mineralización de la cáscara de huevo, en el que las anexinas transfieren calcio a las vesículas y la anhidrasa carbónica 4 cataliza la formación de iones bicarbonato (HCO), para la acumulación de ACC en las vesículas. Nuestra hipótesis es que el ACC se estabiliza mediante la ovoalbúmina y/o lisozima o proteínas vesículas adicionales identificadas en este estudio. Finalmente, se propone que EDIL3 y MFGE8 sirvan como moléculas guía para dirigir los EV al sitio de mineralización. Por lo tanto, reportamos por primera vez evidencia experimental de los componentes del transporte vesicular para suministrar ACC en un modelo de biomineralización de vertebrados.

Así mismo, Rahn y cols (1987) reportan que, los poros de la cáscara del huevo aviar proporcionan los únicos canales de comunicación para el intercambio de moléculas entre el embrión en desarrollo y el entorno externo. Estos conductos en forma de trompeta son microscópicos. Su número y radio de poro efectivo aumentan con la masa de huevos, de aproximadamente 300 y 3 micras en huevos de 1 g a aproximadamente 30.000 y 13 micras, respectivamente, en huevos de 500 g. El volumen total de todos los gases que se difunden a través de estos poros es grande. Por ejemplo, hasta el momento en que se produce el picado interno, cuando se inicia la ventilación pulmonar, han pasado unos 20 litros (O_2 + CO_2 + vapor de agua) por 10.000 poros de un huevo de 80 g. Las reglas que gobiernan este intercambio de gases se describen mejor con la primera ley de Fick que con la ley de Stefan, que describe la transferencia de gases a través de las estomas de las plantas. Se presentan datos para aquellas especies para las que se ha establecido la conductancia del vapor de agua, el flujo de oxígeno en la etapa de conducción preinterna, la tasa de pérdida de agua de incubación y el número de poros en el huevo. Estas conductancias y tasas de flujo son directamente proporcionales al número de poros. Estas relaciones sugieren que, a pesar de las diferencias en la masa de huevos y el tiempo de incubación, en la mayoría de las aves la conductancia promedio de los poros individuales es similar, es decir, 1,5 microgramos (d X torr)-1 y que el flujo promedio de O_2 y vapor de agua por poro es de 60 y 54 microlitros X d-1, respectivamente.

Se contó el número de poros (N) en las cáscaras de huevo de aves en 161 especies, con una masa de huevo (W) de 0,9 a 500 g. Además, la conductancia del vapor de agua del cascaron (G) mg X (d X Torr)-1, la pérdida de agua en el nido (M) mg X d-1, la duración de la incubación (I) d y el espesor de la cascara o la longitud de los poros (L) micras se enumeran para cada especie cuando están disponibles. Las ecuaciones alométricas para todas las variables se dan cuando se realiza una regresión en la masa del huevo. Cuando log G se realiza una regresión en log N, la pendiente es esencialmente 1.0, lo que indica que el G X N-1 para los poros promedio en las cáscaras de huevo de las aves es de 1.5 microgramos H_2O X (d X Torr)-1, independientemente de la masa del huevo o la duración de la incubación. De acuerdo con la ley de difusión de Fick, dichos poros tienen una relación entre el área de la sección transversal y la longitud de los poros de 0,67 micras, 2 X micras-1. Un análisis más detallado muestra que N, G, M y la tasa de consumo de oxígeno en la etapa previa al picado interno son directamente proporcionales a la tasa de crecimiento media absoluta de los embriones (definida como 0,67 [P/I], g X d-1). Por lo tanto, los poros individuales de las cáscaras de huevo típicas no solo tienen una conductancia G X N-1 similar, sino que también la tasa metabólica y la tasa de pérdida de agua coinciden con la conductancia de los poros, de modo que los flujos de O_2 y CO_2 por poro en la etapa de tubería preinterna y el flujo de vapor de agua por poro son similares entre las especies, a saber, 68, 49 y 50 microlitros X d-1, respectivamente. Las diferencias de presión parciales a través de la carcasa en la misma etapa son de 42, 40 y 27 Torr, respectivamente. La variación ecológica y taxonómica puede alterar algunas de las relaciones predichas para el huevo "típico" con el fin de conservar una pérdida de agua difusiva general típica (Ar y Rahn1985).

b. El papel del sistema neuroendocrino:

La reproducción en las aves está controlada por las neuronas GnRH-I en el hipotálamo, la región del cerebro que integra las señales ambientales y endocrinas internas. Se sugiere que las diferencias sutiles en el sistema neuroendocrino entre individuos pueden ser la razón por la que algunas aves son capaces de una mayor persistencia de puesta que otras. El estrógeno y la progesterona son fundamentales para estimular el crecimiento y el mantenimiento del oviducto izquierdo (Sharp y cols 1992). Estos esteroides sexuales son producidos por los folículos en desarrollo en el ovario en la madurez sexual en respuesta a un aumento en los niveles circulantes de gonadotrofinas como la hormona luteinizante hipofisaria (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH) como se indica en la Figura 2. El estrógeno también desempeña un papel importante en la formación y el mantenimiento del hueso medular en la cavidad medular de los huesos largos al inicio de la puesta. A medida que las gallinas envejecen, se cree que las células del hipotálamo que controlan estos procesos se vuelven menos eficientes. El efecto neto es que el oviducto pierde peso y funciona de manera menos eficiente. El propio oviducto debe sufrir inevitablemente daños por desgaste, posibles infecciones de bajo grado, y probablemente se vuelva refractario a la estimulación prolongada (Dunn, 2013). Posteriormente, el número de días en los que no se pone ningún huevo aumenta, al igual que el número de huevos defectuosos (Solomon, 1991, 2002). Sin embargo, algunos individuos son claramente más capaces de mantener una alta producción de huevos con cáscaras de buena calidad durante períodos más largos. Por lo tanto, debería ser posible mejorar la persistencia en la puesta y mantener la calidad de los huevos en ciclos de puesta más largos.

La maduración y el desarrollo folicular es un proceso complejo de eventos intra y extraováricos interrelacionados que, en última instancia, conducen a la ovulación de un ovocito maduro y a la transformación del folículo roto en un cuerpo lúteo (Channing y cols 1980). El folículo primordial consiste en un ovocito inmaduro detenido en la etapa de dictiato de la meiosis, rodeado por una sola capa de células de la granulosa relativamente indiferenciadas. El ovocito permanece en estado inmaduro debido a muchos factores, uno de los cuales es el inhibidor de la maduración del ovocito (OMI) secretado por las células de la granulosa. Posteriormente, el ovocito aumenta de tamaño y, a medida que se forma el antro, se rodea de células cúmulos. Las células del cúmulo pueden estar íntimamente involucradas en la acción de O,I para detener el ovocito en estado inmaduro dentro del folículo, así como en la reanudación de la meiosis durante el aumento de la LH. Los compartimentos del folículo que cambian más drásticamente durante la maduración folicular son las células que recubren el folículo: la granulosa y las células tecales. Bajo la influencia del estrógeno y la FSH, las células de la granulosa proliferan y también adquieren receptores de FSH. En este momento, el compartimento tecal se diferencia y rodea a las células de la granulosa, pero permanece separado de ellas por una membrana basal. La secreción de esteroides por el folículo antral implica la interacción de andrógenos, estrógenos y progestinas. Tanto el compartimento de la granulosa como el de las células tecales contribuyen al líquido folicular y a los niveles séricos de esteroides; La interacción de ambos tipos celulares puede ser necesaria para la secreción de estrógeno y progesterona en algunas especies. Como consecuencia de la presencia de un número elevado de receptores de FSH, las células de la granulosa del folículo antral pequeño son capaces de responder a la FSH de muchas maneras, incluyendo el aumento de la acumulación cíclica de AMP, la activación del sistema de aromatasa y la inducción de receptores de LH, lo que permite que las células de la granulosa respondan posteriormente a la LH. Actualmente se desconoce el mecanismo por el cual las células tecales adquieren sus receptores de LH. Las células de la granulosa del folículo pueden controlar indirectamente su propia maduración y el número de folículos que maduran a través de la secreción de inhibina folicular, lo que disminuye la producción hipofisaria de FSH. A pesar de que las células de la granulosa han adquirido un gran número de receptores de LH, se les impide la luteinización prematura por factores en el líquido folicular, incluido el estrógeno y un inhibidor de la luteinización (LI). A medida que los niveles séricos de LH aumentan durante el aumento preovulatorio de la LH, se producen una serie de eventos: reanudación de la meiosis de los ovocitos, transformación del complejo enzimático esteroide de estrógeno a secreción

de progesterona, ruptura folicular y formación del cuerpo lúteo. Las células de la granulosa forman la mayor parte del cuerpo lúteo, que secreta cantidades elevadas de progesterona durante un período de tiempo fijo dependiendo de la especie. Antes de la ovulación, el folículo preovulatorio debe estar expuesto y responder a niveles adecuados de LH y FSH para que el eventual cuerpo lúteo secrete cantidades elevadas de progesterona durante su vida normal.

El control neuroendocrino de la ovulación y la incubación en la gallina doméstica implica interacciones complejas entre neuropéptidos hipotalámicos, neurotransmisores y esteroides ováricos que regulan la secreción de la hormona luteinizante (LH) y la prolactina. El receptor nuclear de progesterona se localiza en muchas neuronas a lo largo del hipotálamo, pero está ausente de las neuronas LHRH. Por lo tanto, la acción de retroalimentación positiva de la progesterona sobre la liberación de LH no está mediada por un mecanismo genómico dentro de la neurona LHRH. Los precursores de la 5-hidroxitriptamina (5HT) y la dopamina (DA) inhiben la liberación preovulatoria de LH, mientras que las tasas de recambio de estos neurotransmisores en el hipotálamo anterior disminuyen cuando los niveles preovulatorios de LH están en su punto más alto. Además, una población de receptores para 5HT que se produce en el hipotálamo anterior en las aves ponedoras está ausente en las gallinas que no ponen e incuban. En conjunto, estas observaciones sugieren que el aumento preovulatorio de LH está mediado por una disminución transitoria de la acción inhibitoria de 5HT y posiblemente DA, sobre la secreción de LHRH. Las neuronas que contienen 5HT pueden desempeñar un papel en la regulación de la liberación de prolactina y, más específicamente, en el control de la incubación. Los fármacos que mejoran la función de las neuronas 5HT estimulan la liberación de prolactina, mientras que el aumento de la secreción de prolactina en las gallinas en incubación se asocia con un aumento del recambio de 5HT en el hipotálamo anterior. No se demostraron receptores para la 5HT en la glándula pituitaria anterior, lo que demuestra que la actividad liberadora de prolactina de la 5HT debe estar mediada por un factor liberador de prolactina (PRF). Un candidato para un PRF fisiológico es el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) (Sharp y cols 1984).

Se considera que el ciclo ovulatorio asincrónico de la gallina es la consecuencia de dos sistemas que interactúan, uno de los cuales es circadiano y regula el momento del aumento preovulatorio de la LH. En apoyo de esta proposición, se demostró que el período abierto para la liberación de LH oscilaba con la misma periodicidad que el fotohorario cuando las gallinas fueron expuestas a 14 L:7 D, 14 L:10 D y 14 L:14 D (Etches y cols 1984). Además, se demostró que la maduración folicular no se ve afectada ni sincronizada con el fotoperiodo. No se ha identificado el sistema fisiológico que transduce el ciclo luz/oscuridad en un período abierto para la liberación de LH, aunque la evidencia circunstancial apoya la idea de que la glándula suprarrenal desempeña un papel en esta función. Esta evidencia incluye la yuxtaposición anatómica del ovario izquierdo y la glándula suprarrenal, la inervación de las células productoras de esteroides dentro del folículo por los tractos nerviosos que pasan a través de las glándulas suprarrenales, la capacidad de las inyecciones de metirapona para alterar el momento de la liberación preovulatoria de LH, la capacidad de las inyecciones de corticosterona para inducir la ovulación cuando un folículo maduro está presente en el ovario, y la capacidad de la dexametasona o las infusiones de corticosterona para bloquear la ovulación. Recientemente también hemos demostrado que las infusiones de corticosterona bloquearán el efecto gonadotrópico de PMSG, inhibirán la respuesta fotoperiódica y no afectarán la liberación de LH en respuesta a las inyecciones de GnRH. La adición de corticosterona a las incubaciones de células dispersas de la granulosa no afecta su respuesta a la LH. Estos datos sugieren que la corticosterona puede modular la capacidad de respuesta del hipotálamo a los estímulos tropicales y demuestran que la exposición a la corticosterona puede alterar la capacidad de respuesta de algunos tejidos ováricos a las gonadotropinas.

Los estudios que investigan la regulación de la maduración folicular y la secuencia de ovulación de la gallina doméstica fueron revisados por Bahr y Johnson (1984). El número de receptores FSH de las células de la granulosa ovárica disminuye a medida que el folículo madura, y esta disminución en el número de receptores es paralela a una pérdida gradual de la actividad de la adenilil ciclasa (AC) estimularle por FSH. Por el contrario, la actividad de la CA estimularle por LH aumenta a medida que el folículo progresa a

través de la jerarquía. Además, la FSH estimula la secreción de progesterona por parte de las células de la granulosa de los folículos preovulatorios más pequeños, mientras que estas células solo responden mínimamente a la LH. Estos datos sugieren que la maduración de los folículos menos maduros (más pequeños) está controlada principalmente por la FSH, mientras que la LH puede servir principalmente como la hormona inductora de la ovulación. La capacidad de la LH para estimular la liberación de progesterona e inducir la ovulación prematura depende de la etapa de la secuencia. La inyección de LH ovina 12 horas antes de la ovulación del primer óvulo (C1) de la secuencia induce aumentos repentinos de progesterona plasmática preovulatoria completamente potenciada y una ovulación prematura del 100%, mientras que la inyección antes de la segunda ovulación (C2) de la secuencia no estimula la liberación prolongada de progesterona e induce la ovulación prematura en menos del 50% de las gallinas inyectadas. Estos resultados son consistentes con los datos obtenidos in vitro que sugieren que las células de la granulosa obtenidas 12 horas antes de la ovulación C1 secretan más progesterona en respuesta a la LH de pollo en comparación con las obtenidas 12 horas antes de la ovulación C2. Estos datos se analizan en términos de la capacidad del ovario para actuar como regulador del ciclo ovulatorio.

Solomon (2002) describe que el oviducto aviar unilateral es divisible en cinco regiones funcionales que, moviéndose distalmente, incluyen el infundíbulo, el magnum, el istmo, la glándula tubular del cascaron y la bolsa de la glándula de la cascara. Cada región cumple una variedad de funciones, que a través de su interacción dan lugar a la albúmina multicapa, las membranas de la cascara y el complejo orgánico/inorgánico, que comprende el cascaron. La actividad secuencial de estas regiones estructuralmente diversas es un prerrequisito necesario para la formación de huevos "normal". El esfuerzo reproductivo puede verse influenciado por una serie de procesos patológicos, ya sea directamente en virtud del hecho de que alteran la capacidad de las células de revestimiento para sintetizar sus componentes integrales, o indirectos al comprometer generalmente la salud de las aves. Entre los primeros destacan la bronquitis infecciosa, la enfermedad de Newcastle y el síndrome de caída de huevos. Todos cambian la calidad del producto final en cuanto a la forma y textura de la cáscara. En los últimos años se ha hecho evidente que el estrés ambiental tiene un papel igual o más importante que desempeñar en la disfunción del oviducto. En ausencia de grandes áreas de epitelio superficial funcional, los huevos puestos eran estructuralmente defectuosos en todos los niveles, desde la capa mamilar hacia afuera. A medida que las capas epiteliales se regeneraban, la calidad de la cáscara se aproximaba a la normalidad, pero nunca volvía a la condición anterior al estrés. El proceso de ovoscopia señala, entre otros defectos internos, una variedad de inclusiones clasificadas como manchas de sangre y carne. Son bastante específicos en sus ubicaciones; Así, las manchas de sangre que se originan por la ruptura de los vasos sanguíneos ováricos en la ovulación se limitan invariablemente a la periferia de la masa vitelino, mientras que las manchas de carne ahora clasificadas según su composición se limitan a la albúmina. Dentro de estos últimos se reconocen como depósitos ricos en tejidos, resultado de la descomposición del oviducto y/o fragmentos ricos en calcio. Esto último implica una ruptura en la barrera proporcionada por las membranas blandas.

El rendimiento de la postura de huevos refleja el rendimiento reproductivo general de las gallinas reproductoras. Los rasgos genéticos para el rendimiento de la puesta de huevos tienen una heredabilidad baja o media y, dependiendo del período involucrado, generalmente oscilan entre 0,16 y 0,64. La puesta de huevos en las gallinas está regulada por una combinación de factores ambientales, endocrinos y genéticos. 2. Los principales factores endocrinos que regulan la puesta de huevos son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la prolactina (PRL), la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). 3. En las últimas tres décadas, muchos estudios han explorado este aspecto a nivel genético molecular. Estudios recientes identificaron 31 genes candidatos basados en hormonas reproductivas que se asociaron significativamente con el rendimiento de la puesta de huevos. Con el desarrollo de la tecnología de secuenciación del genoma, se han encontrado 64 nuevos genes candidatos y 108 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) relacionados con el rendimiento de la puesta de huevos utilizando estudios de asociación de genoma completo (GWAS), proporcionando nuevos conocimientos

sobre los mecanismos genéticos moleculares que gobiernan la producción de huevos. Al mismo tiempo, se revisaron los microARN que regulan los genes responsables de la puesta de huevos en las gallinas. 4. La investigación sobre los factores endocrinológicos y genéticos que afectan el rendimiento de la puesta de huevos mejorará en gran medida el rendimiento reproductivo de las gallinas y promoverá la protección, el desarrollo y la utilización de las aves de corral. Esta revisión resume los estudios sobre los factores endocrinos y genéticos del rendimiento de la puesta de huevos en aves desde 1972 hasta 2019 (Du y cols 2020).

Onagbesan y cols (2006) reportan un estudio en donde se compararon y evaluaron los niveles plasmáticos de hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), progesterona (P4), estradiol (E2) y la capacidad de producción in vitro de P4 de las células más grandes del folículo amarillo (F1) de la granulosa con el rendimiento de puesta de 2 genotipos (una línea S estándar y una línea E experimental cruzada enana) mantenidos ad libitum (SA, EA) o regímenes de alimentación restringidos (SR, ER). Los cambios hormonales relacionados con la edad se determinaron de 4 a 50 semanas, los cambios hormonales durante el ciclo ovulatorio se determinaron durante la puesta y los cambios en la capacidad productora de P4 de las células del folículo de la granulosa en respuesta a la LH con o sin factores de crecimiento se midieron in vitro a diferentes edades. La tasa media de puesta fue similar para SR, EA y ER, pero fue menor para el SA. Las concentraciones plasmáticas de LH y FSH aumentaron con la edad en todos los grupos y alcanzaron su punto máximo en la pubertad. La alimentación restringida retrasó la pubertad en ambos genotipos. Las concentraciones de E2 y P4 aumentaron después de la pubertad en todos los grupos, pero se retrasaron en las gallinas restringidas. Los niveles plasmáticos de LH, FSH, P4 y E2 antes y después de la pubertad no se correlacionaron con el rendimiento de la puesta de huevos, pero sí los niveles máximos de E2. Las concentraciones de hormona luteinizante y P4 durante el ciclo ovulatorio mostraron diferencias que pueden estar asociadas a los diferentes rendimientos de puesta de los 2 genotipos bajo alimentación ad libitum y restringida. El aumento de la concentración plasmática de LH (basal) durante el aumento preovulatorio fue mayor en la RS que en la AS, pero fue similar para la EA, la RE y la AS. El aumento de P4 también fue mayor en la RS que en la AS, sin diferencias entre EA y ER. La producción in vitro de P4 por las células de la granulosa en respuesta a la LH con factores de crecimiento similares a la insulina, y la proteína morfogenética ósea-7 fue diferente entre el SA, SR, EA y ER; el EA, el SR y el ER tuvieron mayores respuestas, y el SA tuvo menos respuesta. La presencia de factores de crecimiento similares a la insulina y de la proteína morfogenética ósea-7 mejoró los efectos de la LH dependiendo del régimen de alimentación y la edad de la gallina. Este hallazgo sugiere que las diferencias en el rendimiento de la puesta entre genotipos alimentados con diferentes niveles nutricionales pueden deberse en parte a diferencias en los procesos asociados con la maduración folicular modulada por gonadotropinas y factores de crecimiento. Se concluye que la edad de la pubertad está determinada principalmente por la ración de alimento, independientemente del genotipo, y que las diferencias en el rendimiento de la puesta pueden deberse a una combinación de factores que incluyen cambios en los niveles de gonadotropinas u hormonas ováricas y factores de crecimiento, peso corporal, y la condición de los diferentes genotipos bajo diferentes raciones de alimento.

Por otro lado, Sharp y cols (1992) mencionan que, la puesta de huevos en gallinas expuestas durante más de 11 meses a días foto estimulatorios fue intermitente y se asoció con una reducción en el número de folículos ováricos de yema amarilla. Las gallinas ponedoras viejas (105 semanas) tenían concentraciones más bajas de la hormona luteinizante (LH) en la glándula pituitaria y el plasma y redujeron la capacidad de respuesta de la glándula pituitaria a las hormonas liberadoras de LH de los pollos (LHRH-I y II) in vivo en comparación con las gallinas ponedoras jóvenes (28 semanas). Cuatro semanas después de la transferencia de 14 a 8 h luz/día, la producción de huevos casi se detuvo en las gallinas viejas, pero no en las jóvenes, aunque las concentraciones plasmáticas de LH disminuyeron en todas las aves. Después de la transferencia de 14 a 20 h luz/día, la LH plasmática aumentó en las gallinas jóvenes, pero no en las viejas, sin un cambio en la tasa de producción de huevos. La función reproductiva mejoró en gallinas viejas que regresaron a días largos después de la inducción de una muda y regresión ovárica al reducir la duración

del día y la restricción dietética. Las gallinas mudadas tuvieron una mayor tasa de producción de huevos, concentraciones más altas de LH plasmática y una mayor respuesta de la glándula pituitaria a LHRH-II in vivo que las gallinas de control sin muda. Después de la transferencia de 14 a 8 h luz/día, la puesta de huevos disminuyó más rápidamente en las gallinas sin mudar que en las mudadas; La transferencia a 17 h de luz/día aumentó la producción de huevos en las aves mudadas, pero no en las no mudadas. La inducción de la regresión ovárica en gallinas viejas solo por restricción dietética también mejoró la función reproductiva después de que se relajó la restricción dietética. La puesta de huevos fue más persistente en las gallinas puestas por segundo año transfiriéndolas de 3 a 11 h luz/día que en las gallinas transferidas de 3 a 20 h luz/día. Se estimuló la producción de huevos en gallinas mantenidas a 3 u 11 h luz/día durante 42 semanas, después de la transferencia a 20 h luz/día. La producción de huevos cesó en gallinas mantenidas a 20 h luz/día durante 46 semanas, después de la transferencia a 3 h luz/día. Estas observaciones son consistentes con la opinión de que la mala persistencia de la puesta en gallinas menores de 2 años y expuestas continuamente a largas jornadas es causada, en parte, por una reducción de la función hipotalámico-gonadotrófica. Esta reducción de la función neuroendocrina puede deberse, en parte, al desarrollo de fotorrefractariedad relativa.

La producción de huevos disminuye con el avance de la edad en los pollos domésticos y esto es particularmente pronunciado en los reproductores de gallinas de tipo cárnico (reproductoras de pollos de engorde). Cicciones y cols (2005) reportan que el objetivo de este estudio fue establecer si la disminución de la producción de huevos con el envejecimiento reproductivo en reproductoras de pollos de engorde se correlaciona con la LH y la FSH plasmáticas, y con los ARNm que codifican la hormona liberadora de gonadotropina-I hipotalámica (GnRH-I), la hormona inhibidora de la gonadotropina (GnIH) y las subunidades de gonadotropina. Se realizaron comparaciones entre gallinas en el pico de puesta de huevos (crías: 30 semanas) y al final de un año de puesta (edad: 60 semanas). Las gallinas viejas se subdividieron en grupos de ponedoras y fuera de puesta. La LH y la FSH plasmáticas fueron menores en las gallinas ponedoras viejas que en las jóvenes. En comparación con las gallinas ponedoras viejas, las gallinas viejas fuera de la puesta tenían un aumento significativo de la FSH plasmática, pero no de la LH plasmática. No hubo diferencias en los ARNm hipotalámicos totales de GnRH-I y GnIH entre gallinas jóvenes y viejas. En gallinas ponedoras viejas, la disminución de la LH plasmática se correlacionó con la disminución de la subunidad alfa de la gonadotropina, pero no de los ARNm de LHbeta. La disminución de la FSH plasmática no se asoció con un cambio en el ARNm de FSHbeta. En gallinas viejas fuera de puesta, el aumento de la FSH plasmática se correlacionó con un aumento del ARNm de FSHbeta, mientras que la LH plasmática inalterada se asoció con un aumento del ARNm de LHbeta. Un análisis de regresión de todos los datos plasmáticos de gonadotropina y ARNm de subunidades gonadotropinas recopilados en el estudio demostró que la LH plasmática se correlaciona con los ARNm de la subunidad alfa pero no con los ARNm de LHbeta, mientras que la FSH plasmática se correlaciona con FSHbeta, pero no con los ARNm de subunidad alfa. Se concluye que la disminución de la tasa de puesta en reproductoras de pollos de engorde envejecidos no se correlaciona con la disminución del ARNm de GnRH-I ni con el aumento del ARNm de GnIH, sino que está relacionada con una disminución del ARNm de la subunidad alfa que puede explicar la reducción asociada de la LH plasmática, pero no de la FSH.

c. Selección para persistencia en ciclos largos de producción de huevos:

La selección intensiva de rasgos como la edad de madurez sexual, el pico de producción y la persistencia de la puesta a 55 semanas ha reducido significativamente las variaciones genéticas y fenotípicas que existían previamente en el número de huevos en las líneas comerciales. De hecho, el límite biológico de un huevo por día, por ejemplo, se ha alcanzado prácticamente en el pico de producción. En la actualidad, es una práctica común que las empresas de mejoramiento amplíen su evaluación de línea pura más allá de las 75 semanas. Los cálculos de heredabilidad para la producción de huevos a las 80-100 semanas son moderados (h2 = 0,24) tanto para las ponedoras de huevos blancos como para las marrones. Por lo tanto, hay más margen para la mejora genética en la persistencia de la puesta.

Durante muchos años, las empresas de genética han centrado sus esfuerzos en lograr un mayor peso de los huevos (60 g) en el pico de producción y mantener el peso de estos en o alrededor de este nivel durante el mayor tiempo posible (65,5 g a las 50 semanas). Más allá de esto, el peso del huevo aumenta con la edad de las aves, mientras que la calidad de la cáscara tiende a deteriorarse. Los huevos excesivamente grandes deben evitarse si se aumenta el ciclo de puesta, ya que los huevos grandes son notoriamente difíciles de manipular. La selección se ha centrado inicialmente en controlar el peso de los huevos después del pico de producción y mantener estable el peso de los huevos más allá de las 90 semanas de edad. El efecto neto es que la forma de la curva de peso del huevo se ha vuelto más plana y el tamaño tardío del huevo ha disminuido entre 5 y 7 g (O'Sullivan, 2009). La unidad de Haugh es la medida de selección estándar para la calidad de la albúmina. Curtis y cols (2005) reportaron que las unidades Haugh se deterioran con la edad de las gallinas de un promedio de 89.6 a 68.8 durante el período de puesta. Las estimaciones de heredabilidad para las unidades de Haugh oscilan entre 0,21 y 0,4. Las estimaciones de heredabilidad para las unidades de Haugh calculadas durante un ciclo de puesta más largo, de 80 a 100 semanas, todavía están dentro de este rango. Por lo tanto, a través de la selección también es posible mantener una calidad aceptable de albúmina en lotes de ponedoras más viejos durante un período más largo. El color del huevo solo se incluye en la selección en las poblaciones de ponedoras marrones por razones estéticas y no porque este rasgo se relacione con la calidad del huevo de ninguna otra manera. La variación natural del color marrón se considera importante en algunos mercados, pero no es universal (Arthur y O'Sullivan, 2005). La heredabilidad del color de la cascara en las líneas marrones oscila entre 0,3 y 0,53, dependiendo de la raza (Dunn, 2011).

La resistencia de la cáscara del huevo, por otro lado, es vital para garantizar la integridad y la seguridad del contenido del huevo, pero el problema aquí es decidir qué medida usar. La mayoría de las empresas utilizan una combinación de varias mediciones, ya que creen que cada una mide cosas ligeramente diferentes. Una empresa de cría, por ejemplo, utiliza la resistencia a la perforación como medida de flexibilidad y la resistencia a la rotura como medida indirecta del grosor de la cáscara. Se ha informado que las estimaciones de heredabilidad para la resistencia a la rotura medida por compresión cuasi estática en líneas marrones y blancas son de 0,28 a las 80-100 semanas. Por lo tanto, la resistencia sostenida de la cáscara del huevo en las parvadas más viejas también es un objetivo realista y alcanzable. Algunas empresas de cría han introducido recientemente la medición de la rigidez dinámica en sus programas de mejora. Esta medida fue desarrollada por investigadores de la Universidad de Lovaina a finales de la década de 1990. Dunn y cols (2005) demostraron que la medición de la rigidez dinámica tiene una alta heredabilidad y, lo que es más importante, se demostró que la medición es un predictor preciso de la susceptibilidad de un huevo al daño en el campo. Esta característica única significa que las empresas de mejoramiento genético, que han estado utilizando esta medición durante varios años, están reportando efectos beneficiosos a nivel comercial en términos de una reducción medible en el porcentaje de fisuras y también en el sector de la cría, donde la mejora de la calidad de la cáscara del huevo ha dado como resultado una mejor incubabilidad.

Hanlon (2020) describe que, en la gallina ponedora, la selección genética intensiva para una maduración sexual más temprana y la persistencia de la puesta ha dado lugar a rápidas mejoras en la capacidad reproductiva. Si bien la literatura demuestra que las ponedoras requieren foto estimulación para iniciar la maduración, la evidencia reciente ha informado que las gallinas comerciales modernas ingresan a la puesta sin esta señal estimulante. Otras señales que se están considerando incluyen influencias metabólicas, ya que se cree que el peso corporal (PC) influye en el eje hipotálamo-hipofisario gonadal (HPG) durante la maduración. En cuanto a la puesta persistente, se debe considerar la salud esquelética debido a su asociación con la capacidad reproductiva. Esta investigación tiene como objetivo proporcionar nuevos conocimientos sobre la integración de las señales responsables de la activación del eje HPG y, determinar las alteraciones fisiológicas que resultan en tasas de producción sostenidas. Para estudiar estos efectos, se utilizaron tres cepas de gallinas ponedoras, Lohmann LSL-lite como la cepa comercial moderna, la tradicional Shaver white-leghorns como el equivalente comercial de la década de 2000 y la

AVEM
Aves especialistas de México

Smoky Joe derivada de white-leghorn como el equivalente comercial de la década de 1960. Los resultados demostraron una sensibilidad hipofisaria más temprana a los neuropéptidos estimulantes en las gallinas modernas, junto con un aumento más temprano del estradiol (E2) y la edad del primer huevo (AFE). Mientras tanto, la cepa no seleccionada mostró un AFE retrasado y un aumento inicial en E2. Curiosamente, independientemente de la cepa, la edad o la foto estimulación, todas las gallinas pusieron su primer huevo dentro de una ventana de 64 g de peso corporal. Además, se observaron cinco elevaciones recurrentes en E2 en gallinas modernas, lo que posiblemente contribuyó a su alta tasa de producción sostenida. También demostramos una correlación entre los péptidos orexigénicos, responsables de estimular la ingesta de alimento, durante el período de maduración en Lohmann y Shavers, pero no en Smoky Joes. Por último, la densidad mineral ósea cortical y medular no se vio alterada por la AFE precoz ni por la puesta persistente, ya que la densidad se mantuvo en todas las cepas independientemente de la producción acumulada.

Molnar (2017) reporta que, las gallinas ponedoras se mantienen en producción hasta la edad de 75-80 semanas, pero el período real de producción de huevos es de solo 55-60 semanas, ya que las pollitas jóvenes comienzan a producir huevos aproximadamente a las 20 semanas de edad. Durante un solo ciclo de puesta, una gallina puede producir una media de 360 huevos. Extender el período de producción de huevos y mantener a las gallinas durante más tiempo, posiblemente hasta las 100 semanas de edad, no solo contribuiría a aumentar la rentabilidad, sino también a una producción de alimentos más sostenible. En un ciclo de puesta más largo, los costos de producción de huevos (por ejemplo: precio de compra de pollitas, alimento) se equilibran con las ganancias de un período productivo más largo y el reemplazo de gallinas, la despoblación y la limpieza de los establos serían menos necesarios. Sin embargo, existen varios cuellos de botella en la extensión del período de producción de las gallinas ponedoras, como la disminución de la persistencia y la calidad de los huevos, la disminución de la calidad de los huesos, la salud y el bienestar. Para abordar estos problemas, se necesita un enfoque multifactorial. La mejora de la selección genética debe ir acompañada de una nutrición y un manejo óptimos para poder producir 500 huevos hasta las 100 semanas de edad, lo que debería ser factible para 2020, como predicen las empresas de cría de ponedoras. Esta investigación doctoral se centró en el papel de la nutrición y el manejo en ciclos de producción extendidos en gallinas ponedoras. En primer lugar, se realizó un estudio de campo para comprender mejor cómo cambia la calidad de la cáscara del huevo en la última fase del ciclo de producción en las parvadas de ponedoras. En segundo lugar, se llevaron a cabo experimentos a pequeña escala en los que se probó un concepto de alimentación alternativo, la alimentación dividida, para investigar su potencial para mejorar la calidad de la cáscara en gallinas ponedoras envejecidas. Finalmente, se investigó si la alimentación dividida también sería aplicable en condiciones de campo en la producción comercial de huevos. Además de los factores nutricionales, también se investigaron técnicas de manejo en condiciones comerciales, como el efecto de un programa de estimulación lumínica ajustado para lograr un desarrollo óptimo de la pollita joven durante la recría y la pre-puesta, lo que puede contribuir a un período productivo de puesta más largo.

Los resultados del estudio de campo mostraron que la calidad del huevo disminuyó en la última fase del ciclo productivo y la calidad de la cáscara se volvió más heterogénea. Sin embargo, al final de la puesta, cuando los lotes estaban despoblados, la calidad de la cáscara seguía siendo aceptable de acuerdo con los estándares de huevos de mesa, ya que las parvadas se reemplazaron antes de que la disminución de la calidad de la cáscara pudiera causar pérdidas económicas. En el concepto de un sistema de alimentación dividido, las gallinas son alimentadas con dos dietas nutricionalmente contrastantes durante el día. Por el contrario, en la nutrición convencional de ponedoras, las gallinas se alimentan con una sola dieta durante el día. Ofrecer diferentes nutrientes en el momento en que se requieren durante el ciclo diario de formación de huevos en el sistema de alimentación dividida podría mejorar la eficiencia de la alimentación, la utilización de Ca y posiblemente la calidad de la cáscara. En los experimentos a pequeña escala, además de probar diferentes niveles de nutrientes en la primera y segunda mitad del día, también se evaluó el efecto del tamaño de partícula de la fuente de Ca (piedra caliza fina y gruesa, FL y CL,

respectivamente) en la dieta. En el caso de las gallinas ponedoras de edad marrón (72-83 semanas), se encontró una ingesta de alimento significativamente menor y un porcentaje considerablemente menor de huevos rotos cuando las gallinas fueron alimentadas con una dieta matutina sin fuente de Ca añadida (0FL:0CL) combinada con una dieta vespertina con niveles reducidos de energía, proteínas y P, pero un nivel de Ca aumentado con 30FL:70CL en comparación con una dieta convencional que ofrece los mismos nutrientes.

A pesar de la reducción del porcentaje de huevos agrietados con el sistema de alimentación dividido, no se pudo mejorar el grosor de la cáscara. En el caso de las gallinas ponedoras de edad blanca (75-92 semanas), el mismo enfoque en la alimentación dividida dio lugar a un aumento del peso de los huevos, pero no a una mejora de la calidad de la cáscara. Para las gallinas blancas, proporcionar la misma cantidad de Ca, pero solo como piedra caliza fina (50FL) en la primera mitad y como piedra caliza gruesa (50CL) en la segunda mitad del día, resultó ser la dieta más beneficiosa en el sistema de alimentación dividida. Después de los ensayos a pequeña escala, se investigó si la alimentación dividida también sería aplicable en condiciones de campo en la producción comercial de huevos. Para ello, las gallinas ponedoras blancas se colocaron en jaulas acondicionadas y las gallinas ponedoras marrones se colocaron tanto en jaulas enriquecidas como en pajareras. Los resultados de los experimentos a gran escala en jaulas enriquecidas sugieren que, para un rendimiento óptimo y la calidad de los huevos, los híbridos blancos y marrones podrían requerir una estrategia nutricional diferente con respecto a la cantidad de fuente de Ca y su tamaño de partícula en la dieta alimentada en la primera y segunda mitad del día. Para las gallinas marrones, variar los niveles de Ca a lo largo del día en el sistema de alimentación dividida demostró ser beneficioso para reducir el porcentaje de huevos rotos, mientras que para las gallinas blancas la mejor estrategia para mantener la producción y la calidad de los huevos fue el suministro de niveles constantes de Ca durante todo el día, pero en forma de 50 FL en la primera mitad y 50 CL en la segunda mitad del día. Sin embargo, las diferencias entre los efectos de los tratamientos dietéticos divididos frente a los convencionales sobre la calidad de la cáscara del huevo fueron limitadas.

Los resultados de los experimentos a gran escala en jaulas enriquecidas pusieron de manifiesto que la alimentación dividida podría mejorar la eficiencia alimentaria en lotes envejecidos. Sin embargo, en el sistema aviario, la aplicación práctica de la alimentación dividida era más difícil y no se podía mejorar ni el rendimiento ni la calidad de los huevos. Sin embargo, durante los períodos pre-experimental y experimental, se presentaron varios problemas de salud y bienestar en los lotes en ambos sistemas de alojamiento. Por lo tanto, hay que tener en cuenta los efectos negativos de estos problemas, ya que podrían haber influido en el rendimiento de las aves y en el resultado de los experimentos en general. Los beneficios de un inicio tardío de la puesta no se pudieron demostrar con el programa de iluminación ajustado durante la cría y el inicio de la puesta en comparación con un programa estándar. Sin embargo, los programas aplicados fueron muy similares y, por lo tanto, no se pudo lograr el retraso deseado en la maduración sexual. Por lo tanto, este estudio no pudo confirmar que las gallinas criadas con un programa de iluminación diferida sean más adecuadas para un ciclo de producción prolongado. Con base en las observaciones durante el estudio de campo y los resultados del trabajo experimental realizado, se puede concluir que existe un potencial en los híbridos de ponedoras comerciales para ciclos de producción extendidos hasta las 100 semanas de edad y la meta de producir 500 huevos parece ser factible en 2017.

Sin embargo, los resultados también mostraron que existen diferencias considerables entre los híbridos ponedoras. Las gallinas blancas son más adecuadas para ciclos de producción más largos en comparación con los híbridos marrones tanto en jaulas enriquecidas como en sistemas aviarios. El concepto de alimentación dividida demostró tener potencial para gallinas ponedoras envejecidas, pero su aplicación exitosa requiere un conocimiento profundo del equipo de alimentación instalado en la granja. Aunque la suplementación con Ca es el factor nutricional más importante que influye en la calidad de la cáscara del huevo, también hay que tener en cuenta otros factores relacionados con la salud intestinal. Mantener la salud intestinal y la integridad de los segmentos intestinales, con especial atención al duodeno, el principal sitio de absorción de Ca y P es un requisito previo para una buena calidad de la cáscara durante un ciclo

productivo de puesta prolongado. Para extender con éxito el ciclo de puesta, se necesita una estrategia general que incluya una nutrición optimizada con el enfoque en mejorar la calidad de la cáscara, y varias prácticas de manejo con el enfoque en abordar problemas específicos de salud y bienestar (como la integridad ósea, la salud intestinal, el picoteo de plumas) que surgen en diferentes híbridos mantenidos en diferentes sistemas de alojamiento.

d. Nutrición y alimentación para persistencia y calidad de huevo:

Es importante que las pollitas reciban una dieta adecuada durante toda la fase de crianza para que alcancen el peso objetivo recomendado para las pollitas adultas entre las 14 y las 16 semanas de edad y tengan la composición corporal correcta para mantener la producción de huevos más allá de las 90 semanas. Por lo tanto, se debe seguir una curva de crecimiento específica. Esto es particularmente importante en el caso de las estirpes de larga vida, donde se espera persistencia en la puesta. Cualquier desviación del peso objetivo de las pollitas influirá en el peso medio de los huevos durante la fase inicial de puesta ($r2 = 0,85$, $P < 0,01$) y en la producción total de huevos durante todo el período de producción (Bouvarel y cols 2011). Se debe prestar especial atención a la relación energía/proteína entre las 11 y las 16 semanas, ya que el aumento del contenido energético de la dieta mejora la puntuación de engorde (Cheng y cols 1991). El tamaño de las partículas, si no es adecuado para el tamaño del pico, también puede dar lugar a una reducción de la ingesta de alimento y, por tanto, a un aumento de peso durante la fase de crianza. También deben evitarse demasiados cambios en la dieta o cambios rápidos en la dieta durante la fase de cría. Alrededor de las 16 semanas de edad, el contenido de energía y proteínas de la ración debe ajustarse para garantizar que la gallina consuma suficiente alimento para hacer frente al crecimiento y al inicio de la producción de huevos. Hay varias formas de promover la ingesta de alimento en esta época, por ejemplo, el uso de cereales enteros y fibra gruesa insoluble en agua (Hetland y cols 2005). Es particularmente importante que este alimento sea apetitoso y esté siempre disponible, ya que se están formando reservas óseas medulares y el ovario y el oviducto se están desarrollando en este momento.

Durante el período de puesta, el primer reto es ajustar las necesidades energéticas y proteicas para optimizar la producción de huevos y controlar cuidadosamente el peso corporal. El requerimiento de crecimiento solo está presente durante las primeras semanas al inicio de la producción de huevos. La energía necesaria para el mantenimiento a partir de entonces depende del peso corporal y de la cobertura de las plumas y, por lo tanto, aumenta con la edad de la gallina. La recopilación de la literatura muestra claramente una correlación fuerte y negativa entre la ingesta de alimento y la concentración de energía dietética (Bouvarel y cols 2011). Sin embargo, esta adaptación es solo parcial, por lo que se pueden utilizar dietas de alta energía durante la primera parte del período de puesta para satisfacer el requisito continuo de crecimiento y promover un peso de huevo más pesado y temprano sin el riesgo de sobrealimentar y producir gallinas gordas (Pérez-Bonilla y cols 2012). Sin embargo, el requerimiento de energía de la gallina disminuye a medida que se establece la producción de huevos. Para minimizar la deposición de grasa, se puede utilizar una dieta más baja en energía en este momento, ya que las aves podrán compensar parcialmente aumentando su ingesta de alimento.

Las gallinas ponedoras también ajustan su ingesta de alimentos de acuerdo con el tamaño relativo de las partículas en relación con el tamaño del pico (Safaa y cols 2009). La variación del tamaño de las partículas permite un mayor equilibrio de la ingesta de energía. La concentración bruta de proteína y aminoácidos en la dieta de las ponedoras también son importantes, siendo la metionina el principal aminoácido limitante (AA). El consumo de 1 g extra de proteína al día, por ejemplo, da como resultado un aumento medio del peso del huevo de 1,4 g (Bouvarel y cols 2011). Sin embargo, la cantidad de proteína consumida depende de la concentración de energía de la dieta y de la forma de la ración. Idealmente, la concentración de proteínas y aminoácidos en la dieta debe estimarse en relación con el peso del huevo (mg/g de huevo para aminoácidos) y ajustarse para optimizar la producción de huevos a lo largo del ciclo de puesta. Sin embargo, una dificultad adicional es que la heterogeneidad del lote aumenta con la edad del lote. Por lo tanto, la mejor estrategia es centrarse en mantener la producción de las gallinas de mayor producción y

ajustar el suministro de proteínas y aminoácidos en consecuencia, siempre que el costo no sea prohibitivo. La alimentación en vacío, en la que hay un intervalo de 3 a 4 horas entre las comidas, lo que permite a las aves consumir partículas finas, es una herramienta de gestión útil para mejorar la eficiencia de la ingesta de alimento y la uniformidad del peso corporal de la parvada durante el período de puesta. También se están investigando métodos de alimentación secuencial en los que se varían los niveles de energía y proteínas en la mañana frente a la alimentación de la tarde (Traineau y cols 2013, 2015). El conocimiento de las necesidades específicas de energía y proteínas de la gallina a lo largo del día permitiría optimizar la ingesta diaria y mejorar la eficiencia de conversión alimenticia. En la actualidad, sin embargo, no parece haber pruebas claras de que las necesidades de energía o proteínas de la gallina varíen a lo largo del día y de que las gallinas ponedoras puedan ajustar su ingesta diaria en consecuencia. Por el contrario, el apetito específico de calcio de la gallina ponedora al final de la tarde está bien establecido (Mongin y Sauveur, 1979).

La granulometría del alimento balanceado afecta el consumo de alimento de las pollitas en crianza, así como de las ponedoras, por lo que se recomienda verificarla de forma regular. La estructura del alimento balanceado, incluyendo tanto el tamaño de partícula como la uniformidad, depende de las siguientes características: la composición del ingrediente, las características del grano y el método de molienda. Cuando el alimento se presenta en forma de migaja de buena calidad, será más fácil de consumir para las pollitas, reduciendo el tiempo que se tarda en consumir el alimento balanceado y, como resultado, fomentará el desarrollo de la producción de las ponedoras comerciales. Por lo tanto, se recomienda utilizar una dieta de en migajas desde el día 0 hasta las 10/11 semanas de edad de la pollita y seguida de una dieta en harina con el tamaño de partícula recomendado como especificada. Tener en cuenta que las dietas en harina son más sensibles para el consumo selectivo por parte de las ponedoras, el tamaño de partícula es más crítico en comparación con los gránulos o las migajas. Además, las partículas demasiado finas darán lugar a una reducción del consumo de alimento, por lo que es clave el equilibrio adecuado entre las diferentes partículas. Si se produce segregación, los diferentes ingredientes los aditivos como vitaminas, minerales, aminoácidos y demás tienden a estar segregados, lo cual introduce una variabilidad en la ingesta de alimentos, trayendo consigo diferencias en tamaños de huevo y posiblemente variación en el color de la yema. El alimento triturado, con una buena distribución del tamaño de las partículas, permitirá un buen crecimiento y el correcto desarrollo de un sistema digestivo robusto Todavía no existe un método estándar de análisis del tamaño de las partículas, sin embargo, el tamizado en seco es un método apropiado para alimentos balanceados no expandido. El resultado de sus análisis de tamiz de alimento le dará una reflexión rápida y confiable sobre la estructura del alimento de sus dietas para las ponedoras comerciales.

El desarrollo del tracto digestivo está fuertemente influenciado por el tamaño de las partículas del alimento balanceado. En general, las pollitas en el periodo de crianza, así como las ponedoras comerciales, que consumen alimentos que contienen partículas grandes desarrollarán mollejas más grandes y musculosas, estas aves también desarrollarán tractos intestinales más largos. Cuanto más grande sea la partícula de alimentación, más tiempo pasará en la molleja. La función de la molleja es moler las partículas de alimentación más grandes en partículas más pequeñas antes de que puedan ingresar al intestino delgado. Estas partículas de alimento más grandes también tienen un tiempo de tránsito más largo cuando pasan por el tracto gastrointestinal. Se sabe que las aves que se alimentan con dietas de tamaño óptimo de partículas tienen microvellosidades más largas en sus intestinos. Estas microvellosidades más largas dan como resultado un aumento de las áreas superficiales de absorción, lo que afecta directamente la digestibilidad y la absorción de nutrientes de manera positiva. Cuando el alimento para ponedoras comerciales está compuesto por demasiadas partículas finas (<0,5 mm), las partículas finas de alimento pasarán rápidamente a través de la molleja, ya que no se requiere molienda. Demasiadas partículas finas de alimento balanceado darán como resultado una molleja pequeña, un proventrículo agrandado y una longitud intestinal reducida.

Portella y cols (2018) diseñaron ensayos para investigar el efecto del tamaño de partícula del alimento en el alimento aparente Ingesta de gallinas ponedoras. Se ofreció alimento a cinco grupos diferentes de cuatro aves cada uno ya sea migajas regulares, puré, migajas grandes (aves entrenadas), migajas grandes (no entrenadas) pájaros) o pequeñas migajas, respectivamente. A excepción de las aves no entrenadas, todas las aves fueron Un período de adaptación L5-D. En cada ensayo se ofrecieron 200 g de alimento a las gallinas a las 05:00 h y en cada hora subsiguiente, hasta las 20:00 h, se retiró el alimento del comedero, se tamizó, Se pesaba, se remezclaba y se devolvía a los comederos. Análisis químico de la dieta y varias se llevaron a cabo fracciones de la dieta. Hubo una marcada desaparición de partículas más grandes cuando las aves eran alimentadas con migajas regulares. Sin embargo, las partículas más pequeñas desaparecieron a medida que en la concentración de los grandes disminuyó a lo largo del día. No hubo una desaparición de partículas menores de 0,60 mm. La ingesta de alimento fue comparable cuando la ingesta regular se alimentaban con migajas o raciones de puré. La ingesta total de alimento aumentó cuando las partículas pequeñas mientras que la ingesta disminuyó cuando el alimento se cambió bruscamente a uno de solo partículas grandes. Se concluye que el tamaño de partícula en la alimentación regular de ponedoras desmenuzadas no es uniforme, y que el tamaño de las partículas influye en la tasa de desaparición.

Frikha y cols (2011) utilizaron un total de 864 pollitas ponedoras de huevos marrones para estudiar los efectos del cereal principal de la dieta (500 g de maíz o trigo/kg) y el tamaño de partícula del cereal (molido a martillo para pasar a través de una criba de 6, 8 y 10 mm) sobre el rendimiento de crecimiento y las características digestivas de 1 a 120 días de edad. Cada uno de los seis tratamientos se repitió seis veces (24 pollitas por réplica). El tipo de cereal no afectó el rendimiento de las pollitas a ninguna edad. De 1 a 45 días de edad, la ganancia de peso corporal (PC) se incrementó ($P<0.001$) y el índice de conversión alimenticia mejoró ($P<0.05$) ya que se redujo el tamaño de partícula del cereal, pero no se observaron efectos después de esta edad. A los 45 días de edad, las pollitas alimentadas con maíz tendieron ($P<0.10$) a tener un peso relativo más pesado (PV, g/kg de peso corporal) del tracto digestivo total y proventrículos y una mayor longitud relativa (RL, cm/kg de peso corporal) del intestino delgado (IS) que las pollitas alimentadas con trigo. También a esta edad, el RW del tracto digestivo aumentó ($P<0,05$) con aumentos en el tamaño de partícula del cereal. A los 120 d de edad, el tratamiento dietético no afectó el RW de ninguno de los órganos estudiados ni el pH de la molleja, pero el RL del IS fue mayor ($P<0.05$) para las pollitas alimentadas con trigo que para las pollitas alimentadas con maíz. Además, el RL del SI se redujo ($P<0.05$) a medida que aumentaba el tamaño de partícula del cereal. Se concluye que se pueden incluir 500 g de trigo/kg en los alimentos balanceados de pollitas de 1 a 120 días de edad, y que el tamaño de partícula del cereal afecta al rendimiento de las pollitas durante los primeros 45 días de vida, pero no después. Por lo tanto, se recomienda moler el cereal utilizado en este período con un tamaño de pantalla de no más de 8 mm.

Kocer y cols (1988) examinaron la influencia de la forma de alimento (harina, migaja y pellet) y el tamaño de la pantalla (5 mm y 8 mm) en el rendimiento de la ponedora, la calidad del huevo, las medidas de los órganos digestivos y el pH de la molleja en gallinas ponedoras utilizando un arreglo factorial de tratamientos de 3 × 2. Las ponedoras de huevos blancos Lohmann LSL-Classic (n = 864) a las 28 semanas de edad se dividieron aleatoriamente en 6 tratamientos dietéticos, cada uno con 6 réplicas de 24 aves durante el siguiente período de 24 semanas. Se observaron interacciones significativas ($P < 0.05$) entre la forma del alimento y el tamaño de la pantalla para la producción de masa de huevos. La molienda de los ingredientes a través de un tamaño de tamiz (criba) de 5 mm en lugar de 8 mm, así como el procesamiento posterior de la mezcla de alimento balanceado como puré y desmenuzado, aumentaron la masa de huevos, mientras que se observó un patrón contrastante en el caso de la alimentación con gránulos. La tasa de producción de huevos, el peso del huevo y la tasa de huevos rotos y agrietados no se vieron afectados ni por el tamaño de partícula ni por la forma del alimento. La administración de la dieta en forma de pellets y migajas disminuyó la ingesta de alimento de las gallinas en comparación con el puré ($P < 0,01$). El índice de conversión alimenticia de las gallinas alimentadas con dietas desmenuzadas y peletizadas fue significativamente menor ($P < 0.01$) que para las que recibieron una dieta de puré ($P < 0.01$). Las

características de la calidad del huevo apenas se vieron afectadas por el tamaño de la criba o la forma del alimento. Sin embargo, el consumo de alimento en las formas desmenuzadas y peletizadas disminuyó la puntuación de color de la yema en un 4% ($P < 0,05$). El tamaño de la pantalla y la forma de alimentación no tuvieron efectos sobre el peso porcentual del hígado, la molleja, la longitud del intestino delgado y el pH de la molleja. Sin embargo, la reducción del tamaño de la pantalla de 8 a 5 mm aumentó el peso del páncreas ($P < 0,01$). Los resultados generales de este experimento sugieren que la forma del alimento (puré frente a migajas o gránulos) tuvo un mayor efecto sobre el IF y el FCR de las gallinas ponedoras que el tamaño de partícula de los ingredientes dietéticos, y la mejor eficiencia de conversión alimenticia se obtuvo de las aves alimentadas con pellets. El efecto del tamaño de partícula fue pronunciado para la mineralización de la cáscara de huevo y las funciones pancreáticas.

e. Nutrición en el periodo de prepostura:

El peso corporal uniforme de las pollitas maduras y la composición corporal en la madurez sexual son consideraciones mucho más importantes que la edad calendario específica para una ponedora rentable para una producción exitosa de huevos, medida por la persistencia de la puesta, la producción máxima de huevos, el tamaño del huevo y la eficiencia alimenticia. La mayoría de las razas y cepas de ponedoras tienen un patrón único de aumento de peso corporal durante el período de desarrollo de las pollitas. Una polla de prepostura aumentará el peso corporal en unos 200-300 g de forma bastante dramática, aproximadamente dos o tres semanas antes de que comience la producción masiva de huevos. Durante esta etapa se produce el desarrollo del ovario y el oviducto, un aumento del tamaño del hígado y otros cambios fisiológicos importantes. Este es un período extremadamente importante en la vida de una ponedora exitosa. Durante este período de transición, el requerimiento de nutrientes de las preponedoras, que se ha estabilizado, a medida que se acerca al peso de la pollita madura, comenzará a aumentar y cambiar también. Además, una buena reserva corporal y reservas de grasa son muy esenciales al inicio de la producción (Summers 1993). Este establecimiento de una reserva de energía se produce durante la fase previa a la puesta y tiene mucho que ver con la composición del ave en el momento de la puesta para mantener una buena producción y tamaño de los huevos durante todo el ciclo de producción. En la actualidad, la energía y las proteínas se requieren en mayores cantidades para la síntesis de tejidos que tiene lugar durante este período de rápido desarrollo fisiológico. Un período que a menudo se pasa por alto, pero que es crítico desde el punto de vista nutricional, es la transición de los alimentos balanceados para pollitas a los alimentos terminados para ponedoras. Es necesario revisar el método tradicional de alimentar a las pollitas ponedoras que ofrece una dieta inicial de hasta ocho semanas y una dieta de pre-pico o prepostura de 16 a 22 semanas para aumentar la duración del ciclo biológico efectivo de puesta de huevos. Es posible que la alimentación de las preponedoras con las dietas tradicionales de baja densidad no apoye el aumento o el cambio en la demanda nutricional de las actuales ponedoras de alto rendimiento (Rama Rao 2005). Leeson y Caston (1991) sugirieron que cualquier tratamiento impuesto al principio del período de crecimiento tenía poca influencia sobre el peso corporal y la edad en la madurez sexual en comparación con los tratamientos impuestos durante las últimas semanas antes de la puesta.

Sujata y cols (2914) llevaron a cabo un estudio biológico para revisar las recomendaciones de la Oficina de Normas de la India (BIS) para la alimentación de pollitas ponedoras. Los pollitos de ponedoras comerciales fueron alimentados hasta las 14 semanas de edad según BIS. A las 15 semanas, las pollitas fueron asignadas aleatoriamente a cada una de las cinco estrategias de alimentación previa a la puesta, a saber, T1 (control BIS), T2 (16/2700), T3 (18/2700) (%PB/kcal EM/kg), T4 (igual que T2 + lisina y metionina en un 10% más que BIS) y T5 (igual que T4 con 2% de aceite). Con una producción de huevos del 5%, todos los grupos fueron alimentados según el BIS. Pollitas alimentadas con dietas pre-puestas de alta energía y proteínas de 2700 kcal y 18% de madurez sexual avanzada proteica con buena composición corporal. Las gallinas ponedoras alimentadas con dietas de 2700/18 tuvieron el mejor día de gallina (85,44±1,52), la producción de huevos alojados en gallinas (84,21±1,52), pusieron huevos más pesados, tuvieron una mayor producción de masa de huevos (47,14±0,95 g), dieron la mejor eficiencia alimenticia, tuvieron el

menor costo de producción de pollitas y una alta relación de precios de alimentación de huevos. Se llegó a la conclusión de que las pollitas preponedoras deben recibir 2700/18 kcal de energía metabolizable y nivel de proteínas, frente a la recomendación del BIS de 2500/16 de energía dietética y nivel de proteínas. Los programas genéticos actuales para gallinas ponedoras marrones tienen como objetivo mejorar la producción de masa de huevos mediante el control del peso corporal maduro mientras se mantiene la calidad del huevo durante largos períodos de tiempo. Las dietas de prepuesta bajas en Ca, aumentan la movilización de Ca de los huesos al inicio del período de puesta, lo que puede afectar la resistencia ósea y la calidad de la cáscara al final del ciclo del huevo, reduciendo la ventaja del mayor número de huevos puestos (Bain y cols 2016). Por otro lado, las dietas de prepuesta altas en Ca podrían reducir la ingesta de alimento (IF) y el peso del huevo (EW) al inicio de la producción de huevos, un período en el que el tamaño del huevo es de interés económico crítico.

Durante los últimos 10 a 15 años hemos visto un tremendo aumento en las gallinas ponedoras productividad. El número de huevos, la producción de masa de huevos y la eficiencia alimenticia han mejorado. En la ponedora moderna entra en producción a una edad más temprana y con un peso corporal más ligero que sus predecesores y tiene una excelente persistencia de producción. Hasta hace pocos años el huevo El productor estaba contento si un lote ponía a una tasa de producción del 80 al 83% a las 60 semanas de edad; Sin embargo, con varias de las razas comerciales disponibles en la actualidad, no es raro Tener una parvada que ponga entre el 85 y el 90% de la producción a las 60 semanas. Como consecuencia de la mejora del potencial genético de la moderna ponedora de huevos, ahora tienen un período de crecimiento más corto, lo que hace que sea más difícil para los productores de pollitas alcanzar peso corporal óptimo antes del inicio de la producción. Se dispone de menos tiempo para la implementación programas de vacunación y recorte de picos. Esto aumenta la importancia de la iluminación de pollitas, y nutrición. Una vez que las pollitas entran en producción, la ingesta diaria de nutrientes tiene un tremendo impacto en el nivel máximo de producción, la persistencia de la producción, el tamaño temprano de los huevos y todos los demás parámetros de rendimiento. Los programas de alimentación deben diseñarse e implementarse para Proporcionar cantidades precisas de nutrientes esenciales en función de la producción de masa de huevos, el peso corporal y las plumas y la edad. La ingesta de aminoácidos en la dieta es un factor clave para el éxito de la nutrición de las pollitas y las ponedoras programa. Sin embargo, una revisión de la literatura revela que, en los últimos años, ha habido Poca investigación sobre la influencia de los aminoácidos de la dieta en el rendimiento de las pollitas y las ponedoras.

El peso corporal relativamente bajo de las gallinas modernas reduce el tamaño y la capacidad física del tracto gastrointestinal (TGI), lo que a su vez afecta a la IF voluntaria en las gallinas jóvenes. Por el contrario, las necesidades de energía y nutrientes de las aves aumentan bruscamente al inicio de la producción de huevos para satisfacer las altas demandas de ganancia de peso corporal, producción de masa de huevos y desarrollo del tracto reproductivo. Sin embargo, las dietas altas en energía, proteína cruda (PC) y calcio (Ca) suelen ser bajas en fibra, lo que podría afectar el desarrollo del TGI y la capacidad de las pollitas para aumentar el IF en los estados iniciales del período de puesta. En consecuencia, la relación entre los contenidos de energía, aminoácidos (AA), fibra y Ca de las dietas pre-pico debe optimizarse para maximizar la producción de huevos, mientras que el costo del alimento y la calidad de la cáscara del huevo se controlan y mantienen, respectivamente, durante todo el ciclo del huevo. Sin embargo, la mayor parte de la investigación realizada para estimar los requerimientos estandarizados de Lys digestible ileal (DLys) de las gallinas se ha realizado durante la fase de producción máxima o al final del ciclo de puesta.

Se llevaron a cabo experimentos utilizando dos estripes de huevos marrones para determinar si estas pollitas requieren calcio o proteína cruda (PC) adicional antes de la madurez sexual (puesta previa) y si el aumento de la PC durante la primera parte de la producción (puesta temprana) mejoraría el rendimiento general. En el Experimento 1, los tratamientos de pre-puesta se organizaron como un arreglo factorial 2 × 3 con dos niveles de PC (15 o 17%) y tres niveles de calcio (.9, 1.8 o 3.5%) y se administraron a las pollitas de 18 a 20 semanas de edad. De las 20 a 26 semanas de edad, las pollitas recibieron una ración de 17 o 19% de PC con 3,5% de calcio, lo que resultó en un total de 12 tratamientos. No hubo efectos significativos

de las raciones de prepuesta o puesta temprana sobre los huevos por gallina alojada, el porcentaje de producción por día de gallina (HDP) o la eficiencia alimenticia. El peso del huevo mejoró significativamente utilizando la ración de 17% de prepuesta a las 26, 28 y 31 semanas de edad, pero se vio afectado negativamente por los niveles más altos de PC en la ración de puesta temprana a las 28 y 31 semanas de edad. El aumento del calcio en la ración previa a la puesta tuvo efectos mínimos en la distribución del tamaño de los huevos. El experimento 2 consistió en un arreglo factorial de 3 × 2 de tratamientos con tres niveles de PC prepuesta (15, 17 o 19%) y dos niveles de PC de puesta temprana (17 o 19%) y administrados a las pollitas de 18 a 20 y 20 a 41 semanas de edad, respectivamente. Hubo una mejoría significativa en la HDP de 30 a 41 semanas de edad utilizando la ración de predisposición de 19% de PC. La distribución del tamaño de los huevos no se vio afectada significativamente ni por la prepuesta ni por las raciones de puesta temprana a las 35 semanas de edad (Hawes y Kling 1993).

La fase de transición de 2-3 semanas (prepuesta) antes del inicio de la producción de huevos es extremadamente importante para una ponedora eficiente. Este estudio evalúa diferentes dietas de predisposición de densidad de nutrientes sobre el rendimiento posterior de las ponedoras de Leghorn blanco. Lonkar y cols (2022) utilizaron un total de 180 pollitas White Leghorn de 16 semanas de edad asignadas a estrategias de alimentación de seis prepuestas (kcal EM por kg/%PC/%Ca) durante 16-18 semanas. Los tratamientos fueron T0 (control BIS-2500/16.0/1.0), T1 (2700/16.0/1.0), T2 (2700/16.0/2.0), T3 (2700/16.0/2.5), T4 (2700/18.0/2.0) y T5 (2700/18.0/2.5). Posteriormente, las pollitas fueron alimentadas con la misma dieta de ponedoras (2600/18.0/3.0) durante 19-40 semanas. Se registraron diversos parámetros de crecimiento y producción. El 18% de PC (T4 y T5), 2,0-2,5% de Ca (T2 a T5) y 2700 kcal EM/kg (T1 a T5) en la dieta de puesta aumentó significativamente la ingesta diaria de energía metabólica ($p<0,05$), proteínas ($p<0,05$) y calcio ($p<0,01$) durante 16-18 semanas que 2600 kcal EM/kg (T0), 16,0% de PC (T0 a T3) y 1,0% de Ca (T0). La dieta de prepuesta (T5) mejoró el número de huevos, el porcentaje de producción de huevos, la eficiencia alimenticia, el índice de eficiencia de rendimiento y la relación de precios de los alimentos balanceados de huevo sin afectar a la ganancia de peso y al consumo de alimento, lo que sugiere que la dieta de las puestas es un compromiso entre las dietas de engorde y las de ponedoras.

Se llevó a cabo un estudio para revisar las recomendaciones de la Oficina de Normas de la India (BIS) para la alimentación de pollitas ponedoras y estudiar su eficacia de los alimentos balanceados de prepuestas en hematología y proteína sérica por Sujatha y Thangapandian (2019). Las pollitas ponedoras comerciales fueron alimentadas de 0 a 14 semanas de edad según BIS. A las 15 semanas, las pollitas fueron asignadas aleatoriamente a cada una de las cinco dietas previas a la puesta, a saber, T1 (BIScontrol), T2-16/2700, T3-18/2700 (%PB / kcal EM/kg); T4: igual que T2 + lisina y metionina en un 10 % más que BIS y T5, igual que T4 con 2 por ciento de aceite. Los valores significativamente más altos de volumen de células empaquetadas, hemoglobina, recuento de glóbulos rojos y relación heterófilos/linfocitos obtenidos en el presente estudio de pollitas alimentadas con una dieta de alta densidad indicaron que las pollitas estaban sanas con una tasa metabólica normal. La relación H/L significativamente más alta del grupo control indicó que las aves parecían estar bajo estrés debido a la deficiencia nutricional durante los períodos críticos previos a la puesta, también el nivel de hemoglobina fue menor en este grupo, aunque estaba dentro del rango metabólico normal. La proteína sérica total fue alta en las pollitas alimentadas con un nivel más alto de proteína antes de la puesta, del 18 por ciento. Por lo tanto, se concluye que las pollitas que se acercan a la puesta están sometidas a estrés metabólico y que se recomienda una dieta previa a la puesta que contenga 2700 kcal/kg de energía dietética y un 18 por ciento de PC para las pollitas antes de la madurez sexual, en comparación con la recomendación del BIS de 2500/16 de energía dietética y nivel de proteínas para reducir el estrés y hacer que las pollitas entren en el galpón de ponedoras con suficientes reservas de nutrientes.

Hoyle y Garlich (1987) evaluaron, los efectos de una dieta baja en grasas y alta en carbohidratos con una dieta alta en grasas alimentada antes o al inicio de la producción de huevos sobre el peso inicial del huevo. Las pollitas comerciales tipo huevo fueron asignadas a uno de tres regímenes dietéticos: 1) el control

(CON), una dieta baja en grasas y alta en carbohidratos, 2) una dieta alta en grasas (HF) que contenía ocho partes de grasa, y 3) la dieta alta en carbohidratos proporcionada antes de la puesta y la dieta alta en grasas durante el período de producción (CHO-HF). Las dietas de preinstalación y puesta de carbohidratos contenían 0,990 y 0,943% de grasa y tenían un valor de energía metabolizable (EM) calculado de 2.831 y 2.697 kcal/kg, respectivamente. Las dietas altas en grasas de predisposición y puesta contenían 8,959 y 8,484% de grasa con un valor de EM calculado de 3.202 y 3.032 kcal/kg, respectivamente. Se recolectaron y pesaron los primeros 60 huevos producidos por cada pollita. En el huevo 60 no se observaron diferencias significativas en el peso corporal y el tejido adiposo abdominal. El tratamiento con CON tuvo un peso hepático, un contenido de lípidos hepáticos y un peso ovárico significativamente mayores que los tratamientos HF o CHO-HF. Los tratamientos CON y HF tuvieron una producción de huevos de gallina (HDP) similar. El tratamiento con CHO-HF tardó en adaptarse a la dieta alta en grasas y eso puede haber causado la HDP más baja que se observó para este tratamiento. No se observó ningún indicio de falta de adaptación a la dieta alta en grasas para el tratamiento de la IC. Además, una dieta alta en grasas resultó en un mayor peso de los huevos. Este estudio indica que cuando se suplementó la grasa a la dieta antes del inicio de la producción de huevos, las pollitas se ajustaron a la dieta alta en grasas y el HDP no se vio afectado negativamente.

Revisando trabajos de investigación antiguos, Miller y Sunde (1975) diseñaron cuatro experimentos durante un período de cuatro años con 1350 pollitas de primer año para determinar la influencia de los niveles de calcio y fósforo en las dietas previas a la puesta en las aves en crecimiento y en su rendimiento posterior. Se estudiaron varios niveles de calcio en la dieta en el período de puesta, así como la interacción entre las dietas pre-puesta y puesta. Durante la fase de crecimiento, las pollitas alimentadas con 3.0% de calcio y 0.4% de fósforo tuvieron significativamente ($P < 0.05$) menor peso corporal a las 20 semanas de edad que las pollitas en los otros tratamientos previos a la puesta. El consumo de alimento y la eficiencia alimenticia también se vieron afectados negativamente por este tratamiento, y la madurez sexual se retrasó significativamente ($P < 0.05$). La mortalidad temprana de los laicos a causa de este tratamiento fue evidente. Sobre la base de la producción de huevos, el peso del huevo, la deformación de la cáscara y el porcentaje de huevos de mala cascara (PSE) en el punto de puesta, las dietas previas a la puesta no influyeron en el rendimiento de la puesta ni hubo una interacción entre ninguna combinación de dietas de pollitas y ponedoras. A medida que aumentaron los niveles de calcio de las dietas de las ponedoras, aumentó la producción de huevos, el consumo de alimento y la rigidez de la cáscara. El nivel de calcio del 1,5% no mantuvo la mineralización ósea en comparación con los niveles de calcio del 3,0 y el 4,5%. Se observó que la calidad de la cáscara sobre la base del PSE y la deformación no comienza a deteriorarse inmediatamente después del inicio de la producción. De hecho, hay un corto período de tiempo en el que las cáscaras de huevo mejoran y luego hay una disminución gradual de la rigidez de la cáscara. Las ponedoras alimentadas con una dieta que contenía un 1,5% de calcio produjeron huevos con un peso promedio de 57,4 g. Esto fue significativamente ($P < 0.05$) menor que los huevos de los grupos alimentados con calcio 2.3, 3.0 o 4.5% que produjeron huevos con un peso de 59.1, 58.6 y 59.4 g. respectivamente.

Para estudiar los efectos del calcio (Ca) dietético previo a la puesta y la estirpe sobre la utilización de Ca y la calidad del fémur en el 1º al 50º huevo, se utilizaron 30 pollitas Lohmann Brown (LB) y 30 Lohmann Selected Leghorn-Lite (LSL) (14 semanas de edad) criadas bajo el mismo régimen de manejo por Khanal y cols (2019). Seis pollitas/cepa fueron necropsiadas para muestras basales de fémur y el resto (24 pollitas/cepa) se colocaron en jaulas individuales (65 × 30 × 45 cm3) y se alimentaron con una dieta reveladora de Ca al 1% durante 2 semanas. A los 16 años, todas las pollitas se pesaron y se asignaron dentro de las cepas a dietas previas a la puesta (2,5 vs. 4,0% de Ca), creando efectivamente un arreglo factorial de 2 × 2. A las pollitas se le ofrecieron dietas previas a la puesta durante 2 semanas y se cambiaron a una dieta de 4% de Ca a las 18 semanas. Las dietas contenían TiO_2 para determinar la retención aparente (RA) de Ca. Se registraron la edad, el peso corporal y el consumo de alimento (IF) al 1º, 25º y 50º huevo. Las muestras de excrementos se tomaron durante la pre-puesta, en el 1º y 25º huevo y se realizó la necropsia de 4 gallinas por tratamiento para muestras de fémur en el 1º, 25º y 50º huevo. No hubo

interacción (P > 0.05) entre el Ca previo a la puesta y la deformación en la ingesta de Ca, la densidad mineral del fémur (DMF), el contenido mineral (CMF), la resistencia a la rotura (FBS) y el contenido de cenizas (FA) en el 1º, 25º y 50º huevo. En el 1er huevo, el Ca antes de la puesta interactuó con la tensión en la AR de Ca (P = 0.014) de modo que las gallinas LB retuvieron más Ca al 2.5 vs. 4.0% Ca o LSL al 2.5% Ca. El Ca previo a la puesta no tuvo ningún efecto (P > 0.05) sobre la FMD, FMC, FBS y FA en la 1ª, 25ª y 50ª puesta de huevos. En comparación con las gallinas LB, las gallinas LSL tuvieron una mayor DFM (0,30 vs. 0,19 g/cm2; P = 0,010) y AF (51,9 vs. 42,5%; P < 0.01) en el 1er huevo y FBS (259.4 vs. 173.8 N, P < 0.01) en el huevo 25. En conclusión, excepto en el huevo 25, el Ca y la cepa prepuestos tuvieron un efecto independiente sobre la utilización del Ca. Los atributos del fémur al 1er huevo sugieren una necesidad innata de las aves LSL de acumular masa ósea crítica antes de la primera oviposición.

De Juan y cols (2023) estudiaron la influencia del Ca y el contenido de nutrientes de la dieta alimentada de 16 a 19 semanas de edad, sobre la producción de huevos, la calidad del huevo y la mineralización de las tibias, en gallinas ponedoras marrones de 16 a 63 semanas de edad. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 4 dietas pre-puesta organizadas como factorial 2 × 2 con 2 niveles de Ca (2.5 vs. 3.8%) y 2 proporciones estandarizadas de Lys digestible ileal (g/kg) a AMEn (Mcal/kg) (DLys:ME; 2.84 vs. 3.13) como efectos principales. De 20 a 63 semanas de edad, todas las gallinas recibieron una dieta común con 2,75 Mcal AMEn/kg, 0,75% DLys y 3,8% Ca. Cada tratamiento se replicó 18 veces y la unidad experimental fue una jaula con 10 gallinas. La producción de gallinas y los rasgos de calidad del huevo se midieron por período (4 semanas), fase de alimentación (prepuesta y puesta) y acumulativamente (16-63 semanas de edad) y la mineralización de las tibias se midió a las 63 semanas de edad. Durante la fase de prepuesta, un aumento en el Ca retrasó la producción de huevos (P = 0,065), redujo la ingesta de alimento (P < 0,05) y aumentó la ganancia de peso corporal (P < 0,01) y el porcentaje de cáscara del huevo (P < 0,05). Un aumento en la relación DLys:ME aumentó la ingesta de alimento (P < 0.01) y redujo el tamaño del huevo (P < 0.01). El contenido de nutrientes de las dietas de prepostura no afectó la producción de gallinas durante la fase de puesta, excepto el peso del huevo que aumentó (P < 0.05) en gallinas previamente alimentadas con la baja relación DLys:EM. La calidad de la cáscara del huevo (peso, porcentaje, fuerza y grosor) en esta fase fue mejor (P < 0.05) en gallinas previamente alimentadas con 3.8% de Ca. Acumulativamente (16-63 semanas de edad), las gallinas alimentadas con dietas prepuestas altas en Ca tuvieron una mejor calidad de cáscara, pero la mineralización de las tibias no se vio afectada. En conclusión, un aumento en el contenido de Ca de la dieta previa a la puesta de 2,5 a 3,8% mejoró la calidad de la cáscara durante todo el ciclo del huevo sin mostrar ningún efecto negativo en la producción de gallinas.

El exceso de inclusión dietética de fósforo (P) en alimentos de ponedoras comerciales es costoso para la industria avícola y representa una fuente puntual de descarga excesiva de P al medio ambiente a través de la aplicación de gallinaza a los suelos. Jing y cols (2018) llevaron a cabo una investigación para evaluar los efectos del nivel de P (PA) disponible en la dieta sobre el rendimiento del crecimiento, la bioquímica plasmática, las características óseas y el flujo de P con el fin de evaluar las necesidades mínimas de PA de las pollitas durante el período previo a la puesta. Un total de 192 polluelos Lohmann fueron asignados aleatoriamente a uno de los 4 tratamientos con 8 jaulas replicadas de 6 aves por jaula. Las pollitas de Low (L; el régimen de PA más bajo) fueron alimentadas con dietas en una secuencia de 0,200, 0,175 y 0,150% de PA durante el período de edad de 0 a 4 semanas, 4 a 8 semanas y 8 a 16 semanas, respectivamente. El nivel de PA se incrementó en un incremento de 0.1% en cada fase en Bajo-Medio (LM), Medio-Alto (MH) y Alto (H), por lo que H (control) consistió en 0.500, 0.475 y 0.450% AP. En general, no hubo efectos principales del tratamiento sobre la ganancia de peso corporal (BWG), el consumo de alimento (IF) y el índice de conversión alimenticia (FCR). Sin embargo, en comparación con el tratamiento H, la BWG o FI del tratamiento L fue menor durante las primeras 8 semanas después de la eclosión, pero se volvió comparable o mayor durante las últimas 8 semanas (P < 0.05); La FCR de las aves L fue mayor durante la semana 0 a 4, pero se redujo durante la semana 8 a 16 (P < 0.05). El P plasmático fue menor en los tratamientos L que en H en la semana 8, pero se volvió comparable en la semana 16 (P < 0,001). Las

características óseas no fueron diferentes para las pollitas alimentadas con varios regímenes de PA. La ingesta y excreción total de P se redujeron con la disminución de la PA dietética (P < 0,001), pero su porcentaje de retención no se vio afectado. Los resultados indicaron que el régimen de PA más bajo (0,200-0,175-0,150%) en el estudio actual fue adecuado para apoyar el crecimiento y desarrollo saludable de las pollitas preponedoras, al tiempo que se redujo la excreción de P en el estiércol.

Por otro lado, no debemos de olvidar los eventos adicionales que ocurren en el periodo de transición de la polla a una gallina de postura. Sabemos que, la nutrición durante el período previo a la puesta tiene un efecto en el rendimiento de la producción en el lote ponedora. Este estudio evaluó los efectos de los niveles de energía y proteína de la dieta en la dieta previa a la puesta sobre el rendimiento durante todo el período de puesta y la calidad del huevo, la calidad ósea y la expresión de ARNm de los genes relacionados con el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HPG) de las gallinas al final del ciclo de puesta. Xin y cols (2022) evaluaron un total de 1.856 pollitas marrones Hy-Line de 15 semanas de edad, que fueron asignadas aleatoriamente a uno de los cuatro tratamientos dietéticos: utilizando un arreglo factorial 2 × 2 con 2 niveles de energía (2.700 y 2.800 kcal/kg EM, respectivamente) y 2 niveles de proteína (15 y 16,5% de PC, respectivamente). Las pollitas fueron alimentadas ad libitum de 15 a 20 semanas y a partir de las 20 semanas, alimentadas con una dieta de puesta similar hasta las 72 semanas de edad. A las 72 semanas se evaluó la expresión de genes en el hipotálamo, la hipófisis, el ovario y los folículos y la calidad ósea. A las 72 semanas, no hubo diferencias en el rendimiento productivo, el peso corporal, el índice de órganos y los parámetros ováricos entre los tratamientos dietéticos. La dieta alta en PC aumentó el índice de forma del huevo y el grosor de la cáscara del huevo (p < 0,05), pero la resistencia a la rotura de la cáscara del huevo, la unidad de Haugh y la altura de la albúmina no difirieron entre los tratamientos. Ni la energía de la dieta ni el nivel de proteínas afectaron a la calidad ósea. La dieta baja en energía aumentó la expresión de ARNm de la hormona liberadora de gonadotropina-1 (GnRH-1) en el hipotálamo (p < 0,05). El nivel de expresión de ARNm del receptor de estrógeno-1 (ESR-1) en el hipotálamo y el ovario se elevó con la dieta de 2.700 EM-15% de PC (p < 0,05). La expresión del polipéptido 1 (CYP17A1) de la subfamilia A del citocromo 17 en el folículo blanco grande (FLM), los folículos amarillos pequeños (SYF) y el folículo dominante (DF) disminuyó con la dieta de 2.800 kcal/kg (p < 0,05). Estos resultados indican que la dieta de la prepostura no influyó en el rendimiento productivo, pero tuvo un efecto mínimo en las características de la cáscara del huevo y en los parámetros óseos. Estos resultados sugieren que el nivel de energía y proteína de la dieta de prepostura cambia la expresión de los genes relacionados con el eje HPG de las gallinas alrededor del final del ciclo de puesta sin cambiar el perfil de hormonas sexuales circulantes. Es necesario investigar más a fondo el efecto de la dieta de puesta en el ajuste endocrino al final del ciclo de puesta.

f. Nutrición en el periodo de postura:

La manipulación de la dieta durante el período de puesta puede ser una forma efectiva de mantener la uniformidad del lote y mejorar el rendimiento de la producción en el lote ponedora. Se cree que el desarrollo de los órganos reproductores secundarios y el crecimiento de los folículos ováricos se produce entre 4 y 6 semanas antes del primer óvulo (16-18 semanas de edad) (Cave, 1984), y se producen cambios fisiológicos rápidos durante la fase de prepuesta (Sujatha y cols 2014). El contenido de energía y proteínas de la dieta debe ajustarse para garantizar que las gallinas consuman suficientes nutrientes necesarios para hacer frente al crecimiento y al inicio de la producción de huevos (Bain y cols 2016). La evidencia preliminar ha demostrado que el aumento de los niveles de energía y proteínas en la dieta de la prepuesta aumenta el rendimiento productivo en gallinas ponedoras (Lilburn y Myers-Miller, 1990; Sujatha y cols 2014). Cave (1984) informó que una dieta alta en proteínas podría aumentar notablemente la producción de huevos en gallinas ponedoras. Sin embargo, se ha prestado poca atención a esta etapa crítica en el manejo de las gallinas ponedoras. Se sabe que un aumento en el tamaño del huevo se asocia con un aumento en la ingesta de proteínas en la dieta durante la fase de producción. Sin embargo, se desconoce la ingesta de proteínas necesaria para el desarrollo durante la fase de prepuesta y el mantenimiento de la persistencia

en la puesta. Además, estudios anteriores han informado de que la restricción de la ingesta de energía en la dieta retrasa la madurez sexual de las reproductoras y ponedoras de pollos de engorde (Hollands y Gowe, 1961; Fuller y Dunahoo, 1962; Gowe y cols 1965; Fuller y cols 1969). Sin embargo, debido a la constante selección y mejoramiento genético, el requerimiento de nutrientes debe de revisarse y optimizarse continuamente.

En las aves, al igual que en otros vertebrados, el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HPG) gobierna la producción de óvulos regulando la producción cíclica de gonadotropinas [hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH)] y hormonas esteroides y la selección de un folículo dominante para la ovulación (Mikhael y cols 2019). En el hipotálamo, la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y la hormona inhibidora de gonadotropina (GnIH) actúan sobre la glándula pituitaria para estimular o inhibir la producción de gonadotropinas, respectivamente. La GnRH estimula la glándula pituitaria para sintetizar FSH y LH, lo que estimula las gónadas desarrolladas para sintetizar hormonas esteroides sexuales para iniciar la madurez sexual (Tsutsui y cols 2000; Bain y cols 2016). Sin embargo, la GnIH inhibe la síntesis de FSH y LH. Una investigación reciente ha demostrado que la dieta alta en energía activó el eje HPG y estimuló la secreción de hormonas reproductivas en pollitas reproductoras de pollos de engorde (Hadinia y cols 2020). Sin embargo, se sabe poco sobre el efecto de la energía dietética y el nivel de proteínas en los niveles hormonales. El rendimiento de la producción de huevos de las gallinas ponedoras modernas ha mejorado significativamente durante la última década. Prolongar el periodo de puesta de las gallinas ponedoras se ha convertido en un nuevo objetivo de cría, es decir, la ponedora de larga vida, que será capaz de producir 500 huevos en un ciclo de puesta de 100 semanas (Bain y cols 2016; Gautron y cols 2021b). La osteoporosis es una condición de bienestar importante y prevalente en las gallinas ponedoras causada por la pérdida ósea debido a la absorción del hueso estructural y medular para el calcio necesario para la producción de cáscara de huevo (Webster, 2004). La osteoporosis ha provocado un aumento de las fracturas, especialmente durante la despoblación y el transporte de las ponedoras gastadas, lo que provoca la condena de los cadáveres. En las gallinas ponedoras, las dietas de enriquecimiento proteico-energético pueden ayudar a mantener la masa y la fuerza óseas antes de la madurez sexual (Rath y cols 2000). Estudios previos habían demostrado que la calidad ósea alcanzada antes de la madurez sexual duraba la fase de producción y se mantenía en gallinas ponedoras envejecidas.

En gallinas ponedoras, la pérdida ósea estructural se asocia con la remodelación ósea medular durante la movilización de calcio (Ca) para la formación de cáscara de huevo (Cransberg y cols 2001). Estudios anteriores han reportado que la calidad de la cáscara del huevo y la calidad del hueso están relacionadas (Whitehead, 2004; Kim y cols 2012). En el estudio actual, los tratamientos dietéticos tuvieron efectos mínimos sobre las características físicas de los huesos. El hallazgo sugiere que el desarrollo del fémur y la tibia no está influenciado en el rango de niveles de proteína y energía de la dieta probada entre las 15 semanas y las 20 semanas de edad. En estudios previos, se reportó que la tibia crece hasta las 25 semanas de edad (Rath y cols 2000), mientras que los diferentes huesos respondieron de manera diferente a los tratamientos experimentales. El efecto de las proteínas de la dieta y el nivel de energía en el desarrollo óseo aún no se ha dilucidado. La fosfatasa alcalina es un biomarcador importante para medir la proliferación osteoblástica y la formación ósea y desempeña un papel fundamental en la mineralización ósea. La actividad sérica de la FA fue similar al final de la puesta entre los diferentes grupos de tratamiento dietético, lo que indica una similitud en la actividad osteoblástica. Los resultados de este estudio mostraron que la energía dietética y el nivel de proteína suministrado durante el período de prepuesta no afectaron la DMO y la BBS al final de la puesta, posiblemente porque la dieta de la prepuesta se administró de 15 a 20 semanas, y durante este período, la formación ósea se dirige hacia el hueso medular que carece de integridad estructural en comparación con el hueso cortical (Whitehead, 2004).

Esto es consistente con la observación de que la proteína dietética no afectó la resistencia ósea en pollos de engorde (Muszyński y cols 2018). Además, los resultados actuales corroboran un informe previo muestra que la DMO y la BBS de gallinas ponedoras orgánicas no estaban significativamente influenciadas por los diferentes niveles de energía y proteína en la dieta. Contrariamente a nuestro resultado, Así mismo

las gallinas alimentadas con una dieta alta en energía tienen una DMO y un BBS más bajos. El análisis de mineralización ósea mostró que las aves alimentadas con la dieta de 15% de PC tenían valores más altos de peso de cenizas en la tibia y concentración de cenizas, probablemente debido al aumento en la longitud de la tibia en este grupo. En este estudio, se observó un aumento del nivel sérico de P en una dieta de 16,5% de PC. Este resultado es consistente con la observación en pollos de engorde de que el P sérico disminuyó con la dieta baja en proteínas, lo que se especula que es el resultado de la reducción del nivel de P en la dieta baja en proteínas.

Actualmente, las gallinas ponedoras comienzan a poner entre las 16 y 18 semanas de edad y el pico de puesta es alrededor de las 25 a 28 semanas de edad. Los huevos están bien valorados desde el momento en que el peso del huevo ha alcanzado un valor umbral, que puede ser, por ejemplo, 53 g en la Unión Europea, de 56 g en Centro América y 49,3 g en Estados Unidos. La mayoría de las parvadas se despueblan cuando la tasa de puesta se reduce y, lo que es más importante, la incidencia de huevos degradados aumenta a niveles no rentables. En este momento, todavía hay muchos huevos vendibles, pero la alta variabilidad en la calidad de los huevos significa que se alcanza un umbral en el que menos del 75% de los huevos son comercializables, aunque el umbral puede variar según la economía prevaleciente. En 2016, esto ocurría a menudo alrededor de las 72 semanas en las parvadas de gallinas camperas en varios de los países productores de huevo, es decir, después de un año de producción (Bain y cols 2016), pero ya un estudio belga indicaba que el final de la producción podía variar de 74 a 92 semanas, con una tasa de puesta de huevos del 79% (Molnar y cols 2016). La reproducción en las aves está controlada por el hipotálamo según diferentes estímulos ambientales y endocrinos. A medida que la gallina envejece, los estímulos ambientales que antes eran estimulatorios ya no tienen ese efecto y los posibles factores inhibidores pueden aumentar, lo que resulta en una reducción de la actividad hipotalámica de las células que impulsan la reproducción (Dunn y cols 2009). La consecuencia es una pérdida de peso y funcionalidad del oviducto, lo que conlleva un aumento del número de días de reposo, en donde no hay puesta o con huevos defectuosos (Solomon 2002). Sin embargo, la selección para la producción de huevos ha reducido con éxito los efectos de la edad en el sistema reproductivo, con el resultado de reducir la cantidad de variación en la tasa de producción de huevos hacia el final del período tradicional de puesta. Esencialmente, la mayoría de las gallinas mantenían la producción de un huevo al día. Para realizar la selección y mejorar la sostenibilidad de la industria, los criadores de aves de corral han extendido los períodos de puesta de sus aves de línea pura para hacer visible la variación. Ahora es posible seleccionar aquellos individuos que se observan en lotes más viejos que pueden mantener altas tasas de oviposición con buena calidad de la cascara (Molnar y cols 2016). Acceder a esta variación ha permitido un aumento en la persistencia de la producción de huevos y el mantenimiento de la calidad del huevo a una edad avanzada (Bain y cols 2016). Los criadores indicaron hace 10 años, que querían seleccionar cepas de gallinas ponedoras capaces de poner de forma sostenible hasta las 100 semanas de edad, para una producción total de casi 500 huevos por ave para el año 2020 (Bain y cols 2016), lo cual se ha logrado.

Sin embargo, cualquier mejora en la persistencia de la puesta de huevos debe lograrse con una calidad constante de los huevos. El peso del huevo aumenta en 70 mg por semana entre las 60 y 80 semanas de edad (Molnar y cols 2016). Mientras que los otros componentes del huevo permanecen constantes, hay una disminución en el grosor de la cáscara (-0,23 µm por semana) y una disminución en la resistencia a la rotura con el aumento de la edad de la gallina. Las unidades Haugh son un indicador de la calidad de la albumina de huevo. Miden la altura de la albumina de huevo después de romper el huevo, lo que está relacionado con la viscosidad del gel coloidal de la albumina de huevo. Esta estructura gelatinosa limita la proliferación bacteriana y la migración hacia la yema y es esencial para mantener la calidad higiénica del huevo. Sin embargo, las unidades de Haugh se reducen a lo largo del período de producción (Whitehead 2004, Bain y cols 2016, Molnar y cols 2016). Puede haber otras consecuencias de mantener a las gallinas durante más tiempo, como la muda inducida que debería resultar en una ausencia de huevos durante varias semanas y una pérdida económica porque las gallinas todavía se alimentan mientras no producen huevos.

Es fundamental mantener una buena calidad ósea en la gallina ponedora, especialmente cuando la gallina está envejeciendo. Una gallina ponedora requiere entre 2 y 2,5 g de calcio al día para la producción de una cáscara de huevo. Alrededor de 2/3 de este calcio es aportado directamente por el alimento, el 1/3 restante proviene del almacenamiento por desmineralización del hueso medular. El calcio del hueso medular es necesario en la segunda parte del proceso de mineralización de la cascara. Esto ocurre por la noche, cuando la gallina no tiene acceso al alimento, aunque las aves almacenan alimento en el buche durante varias horas. El hueso medular es capaz de una rápida absorción y renovación (Whitehead, 2004), que puede ser optimizada por las fuentes de calcio de la dieta, que se refiere a contenido, calidad y tamaño de partícula. Incluso con una dieta perfectamente controlada, la desmineralización ósea es un fenómeno natural que también puede afectar a la estructura ósea y, en última instancia, conducir a la osteoporosis. Esta patología, que puede ser prevalente en gallinas viejas, conduce a fragilidad ósea y fracturas del hueso de la quilla que afectan gravemente el bienestar de las gallinas ponedoras (Armstrong y cols 2020). La calidad ósea y las fracturas en estas gallinas son actualmente un problema importante en el sector del huevo de mesa. Es fácil observar gallinas en un lote con huevos muy frágiles o fuertes y lo mismo se aplica a los huesos. Sin embargo, hay relativamente poco conocimiento sobre si las gallinas con defectos óseos son aquellas que ponen huevos con cáscaras frágiles o fuertes.

En los estudios en los que se han examinado las correlaciones genéticas entre la calidad del huevo y la calidad del hueso, hay poca evidencia de que los dos rasgos estén relacionados, y solo la densidad del hueso de la quilla en una línea se correlaciona significativamente con la resistencia a la rotura del huevo (Dunn y cols 2021). Si bien no hubo asociaciones significativas para la fuerza o densidad de la tibia o el húmero con la calidad del huevo, hubo una correlación genética con el inicio de la puesta y el número de huevos tempranos, pero solo en una línea. Aunque no fue significativo, hubo una sugerencia de que los loci genéticos que explican la variación en la calidad del huevo podrían estar presentes en los mismos loci que uno para la calidad ósea, pero en un estudio relacionado, las líneas de gallinas seleccionadas con éxito para tener diferencias en la resistencia ósea no tuvieron diferencias en la calidad del huevo (Fleming y cols 2006). Esto no quiere decir que la puesta de huevos no esté relacionada con problemas de calidad ósea en las gallinas ponedoras, si las gallinas no ponen huevos en absoluto tienen mejor calidad ósea (Eusemann y cols 2020). Sin embargo, la calidad del huevo o la persistencia de la puesta no parecen ser componentes críticos para determinar la calidad ósea de una gallina. Más bien, es posible que el inicio de la puesta, que está intrínsecamente relacionado con el peso corporal de la gallina y los factores genéticos que afectan directamente a la calidad ósea, parezca ser el más importante. Se están llevando a cabo investigaciones para resolver algunas de las preguntas sobre la relación entre la producción persistente de huevos y la calidad ósea y otros problemas de bienestar, y cómo se verán afectados la fisiología, la nutrición y el bienestar de la gallina más vieja. Se están llevando a cabo programas en colaboración con investigadores del sector para garantizar las mejores prácticas que ayuden a respaldar el período de puesta más largo (Toscano y cols 2020).

La prolongación del ciclo de puesta solo se puede lograr cuando la salud de las aves se mantiene en buenas condiciones. Para la parvada promedio, las cifras de mortalidad semanal tienden a aumentar cuando las aves envejecen. La selección genética continua para mejorar la habitabilidad y la mejora de los conocimientos sobre nutrición y manejo de las parvadas han dado como resultado cifras de mortalidad semanal más bajas. Existe cierto optimismo de que, de manera similar a la selección para la producción de huevos vendibles reduce la incidencia de defectos en los huevos (Wolc y cols 2012), los problemas de salud se reducirán con la selección de huevos vendibles, ya que los rasgos negativos para la salud a menudo resultan en una reducción de la producción de huevos. Como sugiere la genética de la calidad ósea, se debe poner más énfasis en el período de cría. La mentalidad está cambiando de verlo como un período de costos a un período de inversión en los logros productivos del ave más adelante en la vida. Durante décadas, las aves han sido seleccionadas para entrar en puesta a una edad más temprana. A partir de la visión general de 37 pruebas de una muestra aleatoria de Carolina del Norte y las pruebas posteriores de rendimiento y manejo de ponedoras (Anderson y cols 2013), se puede observar que la edad de madurez

sexual se ha reducido en más de un mes. Cuando se revisan las últimas 10 pruebas y se hace referencia con las empresas de cría, se puede observar que la selección no continúa para que las aves entren en puesta incluso antes. La estirpe de larga vida necesita tiempo suficiente para crecer y desarrollarse. Los pesos corporales en las semanas 6 y 17 del período de cría se asocian con la productividad más adelante en la vida del ave, es decir, un mayor peso corporal en las etapas cruciales de desarrollo se asocia positivamente con picos de producción más altos, un mayor peso de los huevos y una mejor persistencia en la producción de huevos y, como se ha comentado anteriormente, en relación con la calidad ósea.

Jung y cols (2024) reportan que, en las gallinas ponedoras comerciales, el daño en el hueso de la quilla (KBD) es un grave problema de salud y bienestar lo que provoca dolor, reducción de la movilidad y disminución del rendimiento de la puesta. Lotes de toda la producción Los sistemas y las líneas híbridas pueden verse afectados. La KBD es un problema multifactorial de bienestar y, entre otros, otros factores, asociados a un alto rendimiento de colocación que afecta negativamente a la deposición de calcio en los huesos medulares. Por lo tanto, las gallinas maduras de razas locales con mucho Se puede esperar que la producción de huevos más baja que la de los híbridos comerciales muestre menos o incluso ninguna Daño en el hueso de la quilla. Este estudio evalúa (i) la prevalencia de KBD en razas locales, (ii) las difieres diferencia en el tipo y nivel de daños, y (iii) si los gallos y pollitas también se ven afectados. En total, palpamos 343 gallinas maduras, 40 pollitas y 18 gallos de 13 razas locales diferentes y un híbrido comercial. Los animales se mantuvieron en ocho granjas diferentes en Sistemas de piso-vivienda. Nuestros resultados mostraron que, en promedio, el 44,2% de las gallinas maduras por se vieron afectados por la KBD (rango: 11,1%-84,7%). Se encontró una desviación de menos de 1 cm en 26,9%, desviaciones de más de 1 cm en el 6,4% y fracturas palpables en el 23,8% de los gallinas de razas autóctonas. La punta se dañó en el 23,6% de las gallinas maduras. Además, las pollitas y los gallos se vieron afectados por la KBD. Finalmente, encontramos que la KBD también ocurre en razas locales. Por lo tanto, concluimos que incluso el bajo rendimiento de puesta de las razas locales no pre-destacarlos de la aparición de KBD. El daño al hueso de la quilla en las razas locales puede estar más bien asociada con genética (raza), así como manejo y alojamiento. Por lo tanto, los criadores de razas locales debe incluir la salud ósea como un rasgo de selección. Los propietarios de razas locales también deben pagar atención al estado de la quilla y debe ser entrenado sobre las medidas preventivas.

El cambio acelerado en los sistemas de alojamiento y las prohibiciones de prácticas de manejo como el corte de pico en varios países de la UE (Austria, Alemania, Países Bajos, etc.) es la manifestación más reciente de una tendencia que ha dado lugar a cambios en los criterios de selección de las gallinas ponedoras. El enfoque tradicional que se centraba únicamente en los aspectos económicos de la producción de huevos ha cambiado. Hoy en día, los programas de cría y los índices de selección incluyen más rasgos de salud y bienestar de las aves de corral que nunca. Además de rasgos relativamente bien investigados, como la habitabilidad, la fuerza ósea, la resistencia a las enfermedades y la cobertura de plumas, las empresas de cría han adoptado nuevos rasgos relacionados con el comportamiento, como las interacciones sociales negativas entre las aves, y el comportamiento en sistemas de alojamiento libres de jaulas (Brinker y cols 2018). No solo se ha prestado más atención a la salud y el bienestar, sino que las empresas de cría están demostrando su compromiso y contribuyendo a establecer el estándar para la producción sostenible de huevos. El impacto ambiental por kilogramo de huevos producidos ha disminuido significativamente durante las últimas décadas. La revisión de Pelletier y cols (2014) mostró una comparación de la huella ambiental de la industria del huevo en los Estados Unidos en 1960 y 2010, esta revisión mostro una enorme reducción en la huella ambiental por kilogramo de huevos producidos: la huella ambiental para 2010 fue un 65% menor en emisiones acidificantes, un 71% menor en emisiones eutrofiantes, un 71% menor en emisiones de gases de efecto invernadero y un 31% menor en demanda acumulada de energía en comparación con 1960. A pesar de que la producción de huevos de mesa aumentó un 30% en 2010, la huella ambiental total fue significativamente menor en comparación con 1960. Así mismo, estimaron que entre el 28 y el 43% de esta mejora en la reducción de la huella ambiental podría atribuirse a las mejoras en el rendimiento de las aves. Un estudio de caso español para una

evaluación ambiental de la producción intensiva de huevos. Su estudio europeo mostró que después de la producción del alimento para gallinas, la compra de nuevas gallinas ponedoras para reemplazar el viejo lote contribuyó más al impacto ambiental dañino de la producción intensiva de huevos. Al extender la vida productiva de las gallinas ponedoras en la pirámide de cría y no solo a nivel de producción, el impacto ambiental podría reducirse aún más, ya que se necesitan menos lotes de reemplazo.

Bryden y cols (2020) consideran que la relación entre la nutrición y el bienestar es un resultado directo de suministrar a la gallina cantidades adecuadas de alimento y agua. Esta simple noción de ausencia de hambre y sed contradice el hecho de que los nutrientes desempeñan un papel fundamental en la respuesta del cuerpo a los desafíos, ya sea que se relacionen con la temperatura ambiente, la salud gastrointestinal, la exposición a patógenos, los trastornos metabólicos o el estrés social y mental. En todos los casos, el mantenimiento de la homeostasis y la respuesta fisiológica dependen de un suministro adecuado y equilibrado de nutrientes. Se acepta que la mayoría de las gallinas ponedoras son alimentadas con una dieta completa, formulada comercialmente para proporcionar los nutrientes necesarios para una salud óptima, la producción de huevos y el bienestar. En otras palabras, la gallina ponedora, independientemente de su alojamiento, no experimenta hambre ni sed. Sin embargo, a pesar de un suministro adecuado de nutrientes y agua, ciertos senarios pueden afectar y alterar significativamente los requerimientos de nutrientes de la gallina. Además, la composición química y también la forma física de los alimentos terminados pueden contribuir significativamente a prevenir o tratar las condiciones de bienestar y salud y, por lo tanto, es una herramienta muy relevante para garantizar y mantener un estado de bienestar adecuado. Por lo tanto, esta revisión adopta una perspectiva más amplia del bienestar nutricional y considera la nutrición de las gallinas manejadas en diferentes sistemas de producción en relación con la fisiología nutricional, el microbiota intestinal, el estrés, los trastornos metabólicos y el manejo de la alimentación.

g. Nutrición de la ponedora bajo condiciones de calor:

Todos los sistemas de producción animal experimentan estrés debido a los numerosos factores estresantes en las granjas. El estrés es una respuesta biológicamente adaptativa para restablecer la homeostasis (Marcos 2020). El estrés térmico es una variante del estrés ambiental causado por un aumento de la temperatura ambiental (y la humedad) más allá de la termo tolerancia de un animal. Las aves de corral poseen un rango estrecho de umbrales termorreguladores y son sensibles a las temperaturas ambientales, lo que puede representar un factor de estrés. A lo largo de los años, la selección genética ha provocado una rápida mejora en el crecimiento y el desarrollo muscular de las aves de corral, pero no en la mejora fisiológica del sistema termorregulador. El estrés por calor es una amenaza para el medio ambiente que puede resultar en pérdidas financieras significativas en la producción de aves de corral en las regiones tropicales y áridas del mundo. La alta temperatura ambiental, la velocidad del aire, el calor radiante y la humedad interactúan para causar estrés por calor; De estos, la alta temperatura ambiente tiene un impacto significativo (Kpomasse y cols 2021, 2023; Lara y Rostagno 2013) . El estrés térmico es un resultado fisiológico del desequilibrio entre la producción de energía térmica y el flujo de energía térmica del animal al medio ambiente (5). El grado de estrés térmico (leve, moderado, severo) que experimenta el animal depende de una combinación de diferentes factores, pero no se limita a los factores ambientales (humedad, irradiación térmica), la individualidad (capacidad termorreguladora del animal, tasa metabólica, edad) y las características del estrés térmico (intensidad y duración).

La respuesta adaptativa de las aves de corral a las condiciones de estrés térmico es intrincada y compleja. Cuando se produce el estrés térmico, las aves de corral responden fisiológica y conductualmente en un intento de buscar la homeostasis y restaurar el confort (Farag y Alagawany 2018). Las aves a menudo intentan aumentar la pérdida de calor latente a través del aumento de la frecuencia respiratoria, pero estos mecanismos parecen insuficientes y se requiere una intervención adicional. Estas importantes alteraciones fisiológicas, neuroendocrinas y conductuales dan lugar a una elevada mortalidad, una disminución de la ingesta de alimento, una disminución del peso corporal final, una disminución de la

calidad de la carne y los huevos, y un elevado índice de conversión alimenticia en las aves de corral. A la luz del cambio climático y las pérdidas financieras asociadas, el estrés térmico ha sido una preocupación primordial para los productores avícolas, y se han utilizado diversos enfoques para abordar este problema (Lin y cols 2006). La literatura ha destacado las diferentes estrategias de mejora y mitigación adoptadas para la producción avícola y esta revisión busca sincronizar estos hallazgos, examinar sus deficiencias y hacer recomendaciones para mejorarlas.

Se ha reportado el efecto negativo del estrés por calor en la fisiología, la salud, la producción, el bienestar y los comportamientos de las aves de corral. En los pollos estresados por calor, el estrés oxidativo, el desequilibrio ácido-base y la supresión de la inmunidad son algunos de los cambios fisiológicos que acompañan al estrés por calor. El estrés oxidativo suele estar causado por un desequilibrio entre la generación de ROS y la eficacia del sistema de defensa antioxidante (Mishra y Jha 2019). Numerosos componentes celulares, incluidos los lípidos, las proteínas y el ADN, son susceptibles de sufrir daños permanentes por la generación de radicales libres que con frecuencia sigue al estrés oxidativo. La respuesta fisiológica de un animal al estrés involucra una variedad de sistemas, como el neuroendocrino, el sistema inmunológico, el sistema circulatorio y el digestivo. Por ejemplo, el estrés por calor puede perjudicar el proceso de alimentación, la absorción y la utilización de nutrientes, aunque la ingesta de agua aumenta rápidamente. Richards y cols (2010) y Morera y cols (2012) destacaron el mecanismo implicado en la disminución de la ingesta voluntaria de alimento. Los autores señalaron que la regulación positiva de la secreción de adipoquinas (leptina y adiponectina) y la expresión de sus receptores pueden regular negativamente la ingesta de alimento y el consumo de calorías, lo que resulta en una disminución de la producción de calor metabólico. Este mecanismo puede dar lugar a un equilibrio térmico a corto plazo, pero eventualmente afecta la funcionalidad del sistema digestivo debido a los cambios en la motilidad y los patrones de flujo, la actividad secretora, la viscosidad del contenido y el pH. La disminución de la tripsina, la quimotripsina y la amilasa (secreción intestinal) debido a la reducción de la ingesta de alimento a menudo resulta en un deterioro de la funcionalidad digestiva, la digestibilidad de los nutrientes y el tránsito rápido del alimento (Geraert y cols 1996; Hai y cols 2000).

En condiciones de estrés térmico, la hipoperfusión y el aumento del flujo sanguíneo a la superficie de la piel se producen como una respuesta adaptativa del sistema circulatorio para estabilizar la presión arterial y promover la pérdida de calor. La hipoperfusión, que puede conducir a una reducción de la disponibilidad de oxígeno en los órganos cuando se combina con cambios intestinales, a menudo provoca estrés oxidativo e inflamación. Se ha documentado el efecto inmunosupresor del desafío térmico y esto demuestra que el sistema neuroendocrino juega un papel importante en el funcionamiento fisiológico normal y la homeostasis de las aves durante el desafío térmico. El eje medular simpatisuprarrenal se activa y controla la homeostasis durante las primeras fases del desafío térmico. Se produce un aumento hormonal de catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) y glucocorticoides en la médula suprarrenal como resultado del impulso transmitido por los nervios simpáticos como resultado de la temperatura elevada. Debido a esto, se experimenta una disminución del glucógeno muscular y hepático y un aumento de la frecuencia respiratoria. El eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal se estimula a medida que aumenta la duración del período de estrés. La hormona liberadora de corticotropina, que se secreta en reacción al estrés, hace que la hipófisis libere una hormona llamada hormona adrenocorticotrófica (ACTH). La liberación y síntesis de corticoides por parte de las glándulas suprarrenales se ve incrementada por la ACTH. El aumento de la corticosterona suele ir acompañado de un aumento de los heterófilos, lo que a menudo se traduce en un aumento de los linfocitos heterófilos (Felver-Gant y cols 2012; Honda y cols 2015). Se ha puesto de manifiesto la reducción del número de linfocitos, inmunoglobulinas, respuesta de anticuerpos y actividades fagocíticas de macrófagos en aves de corral sometidas a estrés térmico (Quinteiro-Filho y cols 2017; Deng y cols 2012). Los niveles de glucosa en sangre se elevan por la gluconeogénesis estimulada por corticosteroides. Los cambios en la concentración de corticosterona tienen un impacto en la composición corporal, la calidad de la carne y el metabolismo de proteínas y lípidos. Las hormonas tiroideas (tiroxina y triyodotironina) secretadas por la glándula tiroides, son

esenciales para regular la tasa metabólica. Además, son indicadores que representan el estado inmunológico de las aves de corral durante el estrés por calor. Se ha informado de una reducción del nivel de anticuerpos, del peso relativo de los órganos linfoides (bazo, timo, bursa) y del hígado en aves de corral estresadas por calor en comparación con las aves no estresada. Las altas temperaturas en los países tropicales, especialmente durante la estación seca, están relacionadas con la prevalencia de enfermedades infecciosas y contagiosas de las aves de corral, como la enfermedad de Newcastle y la enfermedad de Gumboro.

Los pollos de engorde comerciales de hoy en día tienen una tasa metabólica rápida y una mayor producción de calor, por lo que son propensos al estrés por calor. Esencialmente, los procesos metabólicos de los pollos se ven alterados por las altas temperaturas ambientales, lo que también hace que produzcan más glucosa para mantener la homeostasis (Surai y cols 2019). Los organismos sometidos a estrés térmico tienen una mayor actividad catabólica para producir energía para combatir el estrés térmico. La energía requerida para la síntesis y descomposición de proteínas es alta: se necesitan 4,5-7 moles de ATP por cada enlace peptídico creado, y se necesitan 1-2 moles de ATP por cada enlace peptídico roto, lo que sugiere que los procesos catabólicos son la causa del aumento o la caída de los aminoácidos libres que ocurren debido al desafío térmico. Los sacos aéreos son cruciales para el intercambio gaseoso a altas temperaturas porque promueven la circulación del aire en la superficie. La evaporación, por lo tanto, da como resultado la eliminación del calor (John 2009). Es importante tener en cuenta que un mayor jadeo da como resultado un pH sanguíneo más alto (alcalosis respiratoria) y más dióxido de carbono exhalado (Borges y cols 2004). El bajo rendimiento del crecimiento en las aves se ha atribuido al estrés por calor, que altera las funciones inmunológicas e intestinales, causa disfunción endocrina y aumenta el estrés oxidativo. El eje hipotalámico es estimulado por el estrés térmico debido a un aumento de los niveles de adiponectina y leptina, lo que resulta en una reducción en el consumo de alimento (34). Los animales sometidos a estrés térmico pueden reducir su generación de calor minimizando su ingesta de alimento. A su vez, la deposición de proteínas se ve afectada negativamente durante el desafío térmico. El estrés térmico influye en la transcripción de genes ribosómicos y en la síntesis de proteínas, con la consiguiente menor deposición de proteínas. Los hallazgos revelan que una ración alta en proteínas provocó una menor deposición de grasa en los animales bajo estrés que en los alimentos con alto contenido energético y graso.

En general, la exposición de las aves a temperaturas ambientales adversas da como resultado una disminución en la actividad tiroidea y el contenido de proteínas, al tiempo que aumenta el catabolismo de proteínas, la acidosis metabólica y la glucólisis anaeróbica. Al interrumpir la función mitocondrial, el estrés por calor reduce el metabolismo aeróbico, reduce la actividad metabólica aeróbica y aumenta la glucólisis, lo que conduce a un aumento en la deposición de grasa muscular (Zaboli y cols 2019). En las aves homeotérmicas, cuya temperatura corporal debe mantenerse alta y constante, se considera que las hormonas triyodotironina y tiroxina son los principales reguladores de la generación de calor metabólico. Las hormonas triyodotironina y tiroxina están involucradas en la termogénesis en las especies avícolas para mantener una temperatura corporal normal. La hormona tiroidea mejora el metabolismo basal a través de la modificación de la función mitocondrial y ayuda a los músculos esqueléticos a adaptarse a las diferentes condiciones ambientales, como reportan Nawaz y cols (2021). Se ha demostrado que el tamaño y las funciones de la tiroides se ven afectados durante el estrés térmico. De manera similar a los hallazgos de un estudio realizado por Tollba y Hassan (2003) encontró que los pollos expuestos a desafío térmico (38 ° C durante 3 h diarias de 35 a 40 días de edad) exhibieron concentraciones plasmáticas de T3 más bajas. Además, se ha mostrado que los pollos desafiados con estrés por calor tenían niveles más bajos de T3. Además, la exposición de las codornices a una temperatura ambiente elevada (38 °C durante 24 h) redujo la T3 plasmática en comparación con las que se encontraban en una zona termoneutral. Los datos existentes indican que las respuestas de regulación a la baja o al alza de los pollos sometidos a desafío térmico pueden estar influenciadas por la edad y la duración/nivel de estrés. Por ejemplo, los hallazgos indicaron que los pollos expuestos a 41 °C no influyeron en las concentraciones de hormonas tiroideas (T4 y T3). Sin embargo, un desafío térmico de 1 h a 50 °C en un pollito de 5 días aumentó las concentraciones

de tiroxina y triyodotironina (Bowen y Washburns 1985). Por el contrario, Tollba y Hassan (2003) indicaron que 3 h de exposición de los pollos a 38 °C redujeron la T3 en sangre y que la exposición de pollos de engorde a un desafío térmico (36 °C) durante 6 h diarias provocó una disminución de la T3 plasmática entre las semanas 4 y 6. La manipulación térmica (exposición de 2 h de los embriones a 39,5 °C en los días 3, 7 y 13) durante el desarrollo embrionario aumentó las concentraciones de hormonas tiroideas en codornices. La evaluación de las concentraciones de T3 en aves sometidas a estrés térmico podría utilizarse como herramienta de evaluación, ya que desempeñan un papel esencial en el aumento del metabolismo al ralentizar la tasa de oxidación de la glucosa y aumentar el calor metabólico generado.

La disminución de la hormona tiroidea en la sangre durante el estrés por calor sirve como un mecanismo adaptativo para reducir los requisitos de energía de mantenimiento y la producción de calor metabólico y aumentar la deposición de grasa al inhabilitar la lipólisis para escapar de la carga de calor adicional. La demanda de energía aumenta bajo estrés térmico. Los hallazgos de Bowen y Washburn (1985) han revelado que las hormonas tiroideas de fuentes externas tuvieron un tiempo de supervivencia más corto bajo desafíos térmicos. Los cambios metabólicos alterados podrían resultar en un rendimiento deficiente de los pollos. Los desafíos térmicos crónicos y agudos podrían conducir a una disminución en el metabolismo de las aves, lo que resulta en complicaciones graves en el rendimiento de los pollos de engorde, incluida la disminución de la jugosidad de la carne, la capacidad de retención de agua, el pH muscular, el color y el pH muscular. El eje HPA se activa por desafío térmico, que también altera la función del sistema neuroendocrino en las aves de corral. Los niveles elevados de corticosterona plasmática también pueden afectar el transporte celular, la proliferación, la liberación de citocinas y la formación de anticuerpos. El aumento de los niveles de corticosterona durante el estrés puede estar relacionado con el deterioro de la capacidad de absorción intestinal y la morfología de los pollos de engorde. La respuesta metabólica e inmunológica general de los pollos de engorde al desafío térmico puede verse afectada significativamente por un aumento de la concentración de corticosterona (53). Recientemente, Yuanyuan y cols (2020) indicaron que la capacidad de los pollos de engorde para resistir el estrés y el daño oxidativo disminuyó constantemente a medida que aumentaba la temperatura ambiente, y se encontró que el estrés por calor tenía un impacto perjudicial en estos rasgos. Los autores identificaron algunos metabolitos como posibles biomarcadores de estrés térmico en pollos de engorde, como el ácido glutárico, la neohesperidina, el ácido tartrónico, el ácido tartárico y la alosa. Los resultados demostraron que a medida que la temperatura aumentaba de 20 °C a 30 °C, las concentraciones de lactato deshidrogenasa, cortisol, hormona adrenocorticotrópica y creatina quinasa aumentaban en los pollos de engorde.

Balnave y Brake (2005) reportan que, Las temperaturas máximas diarias superiores a los 30 °C son comunes en muchas regiones productoras de huevos de mesa del mundo. Tales temperaturas requieren la aplicación de un manejo y nutrición especializados para que las gallinas ponedoras produzcan huevos cerca de su potencial genético. Se ha demostrado que los edificios modificados ambientalmente son especialmente ventajosos para las ponedoras comerciales que se alojan en instalaciones de jaulas de alta densidad. También se ha descubierto que dirigir el movimiento del aire hacia las aves alojadas en el suelo maximiza la pérdida de calor y es beneficioso siempre que la temperatura del aire no supere la temperatura corporal. Este último procedimiento fue especialmente útil cuando las incidencias esporádicas de estrés por calor eran comunes. La manipulación nutricional de la dieta también ofrece ventajas, sobre todo en la superación de problemas de reducción del apetito. Se ha demostrado que este principio se aplica tanto a las pollitas en crecimiento como a las ponedoras adultas. Investigaciones recientes han confirmado que la producción óptima durante la puesta depende de que la gallina adulta tenga una capacidad intestinal adecuada y una nutrición suficiente durante la cría. La producción de huevos durante el estrés por calor moderado se puede mejorar aumentando la ingesta de proteínas en relación con la energía, pero es probable que los requisitos de energía aumenten en el estrés por calor severo. También se ha informado que la suplementación dietética con ácido ascórbico y vitamina E y el suministro de agua potable fría mejoran la producción durante la puesta, pero la respuesta a este último tratamiento varió según el genotipo.

Se llevaron a cabo dos experimentos para evaluar el efecto de la suplementación con vitamina A de una dieta comercial para ponedoras sobre el rendimiento de las ponedoras y la función inmunitaria de gallinas estresadas por calor (Lin y cols 2002). En el Experimento 1, se utilizaron dos niveles diferentes de suplementación con vitamina A (3.000 y 9.000 UI/kg) para investigar el rendimiento de la puesta y el título de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle (VND) de gallinas sometidas a estrés térmico. Los resultados mostraron que el alto nivel de suplementación con vitamina A (9.000 UI/kg) tuvo un efecto beneficioso sobre la ingesta de alimento y la tasa de puesta de las gallinas estresadas por calor ($P < 0,05$), en comparación con el grupo control (3.000 UI/kg). Los títulos de anticuerpos no se vieron influidos por el nivel de vitamina A ($P > 0,05$). En el Experimento 2, se estudió el efecto de cuatro niveles de vitamina A (3.000, 6.000, 9.000 y 12.000 UI/kg) sobre el título de anticuerpos frente al VEN y la proporción de linfocitos T. Las aves experimentales fueron expuestas a una temperatura alta (31,5 C) 15 días después de la vacunación contra el VEN (Tratamiento 1) o inmediatamente (Tratamiento 2). Los resultados mostraron que el peso del huevo se incrementó ($P < 0.01$) por los altos niveles de suplementación con vitamina A (6,000 y 9,000 UI/kg), pero la ingesta de alimento, la tasa de puesta y la pérdida de peso corporal no lo fueron ($P > 0.05$). En el tratamiento 1, la vitamina A no tuvo un efecto significativo sobre los títulos de anticuerpos contra el VEN en ambientes normales o cálidos, pero aumentó ($P < 0,01$) la proporción de células alfa-naftil acetato esterasa positivas (ANAE). La suplementación con vitamina A tuvo un efecto significativo en el título de anticuerpos contra el VEN y en la proporción de células positivas para ANAE en el tratamiento 2 ($p < 0,01$). Los resultados del presente estudio sugirieron que la suplementación con vitamina A en dietas comerciales de ponedoras para pollos ponedoras sometidos a estrés térmico fue beneficiosa para el rendimiento de las ponedoras y la función inmunológica.

El presente estudio de Mashly y cols (2004), se llevó a cabo para determinar los efectos adversos de las altas temperaturas y la humedad no solo en el rendimiento vivo y la calidad del huevo, sino también en la función inmune en gallinas ponedoras comerciales. En este estudio se utilizaron ciento ochenta gallinas ponedoras de 31 semanas en su punto máximo de producción. Las gallinas se alojaron en jaulas (15 jaulas de 4 aves/jaula) en cada una de las 3 cámaras ambientales y recibieron 1 de 3 tratamientos. Los 3 tratamientos fueron control (temperatura media y humedad relativa), cíclico (temperatura y humedad cíclica diaria) y estrés térmico (calor y humedad constantes) durante 5 semanas. Se midieron diferentes parámetros productivos e inmunológicos. El peso corporal y el consumo de alimento se redujeron significativamente en las gallinas en el grupo de estrés por calor. La producción de huevos, el peso del huevo, el peso de la cáscara, el grosor de la cáscara y la gravedad específica se inhibieron significativamente entre las gallinas en el grupo de estrés por calor. Del mismo modo, los recuentos totales de glóbulos blancos (WBC) y la producción de anticuerpos se inhibieron significativamente en las gallinas en el grupo de estrés por calor. Además, la mortalidad fue mayor en el grupo de estrés térmico en comparación con los grupos cíclico y control. A pesar de que las actividades de los linfocitos T y B no se vieron afectadas significativamente por ninguno de los tratamientos, los linfocitos de las gallinas en el grupo de estrés por calor tuvieron la menor actividad a 1 semana después del tratamiento. Estos resultados indican que el estrés térmico no solo afecta negativamente al rendimiento de la producción, sino que también inhibe la función inmunitaria.

Las estripes modernas de aves se han producido para satisfacer las demandas de los consumidores en términos de cantidad y se ven afectadas por problemas asociados con la inmunidad (sensibilidad a la infección con diferentes enfermedades), los factores estresantes (alta sensibilidad a diferentes factores estresantes) y la calidad del producto (calidad de la carne y el huevo). En particular, el estrés térmico (HS) afecta negativamente al rendimiento productivo, el rendimiento de la carne, el rendimiento del huevo, la calidad de la carne (aspecto visual y características químicas), la calidad del huevo (interna y externa), el rendimiento reproductivo, las funciones intestinales y la respuesta inmunitaria. Además, existe una mayor conciencia entre los consumidores de la calidad de los alimentos y la industria debe tratar de satisfacer las mayores exigencias de los consumidores. Por lo tanto, existe una mayor presión sobre los productores

avícolas para que mejoren la cantidad y calidad de su producción. Como consecuencia, es importante saber cómo afecta la HS a la calidad de la carne, la calidad del huevo, los órganos inmunológicos, las funciones intestinales y los órganos reproductivos para protegerse contra cualquier efecto negativo. Además, es fundamental determinar el papel de los factores nutricionales y la posibilidad de utilizarlos para superar los efectos negativos del estrés térmico. Esta revisión resume la investigación actual en estas áreas (Fouad y cols 2016).

Attia y cols (2916) reportan que, el estrés térmico tuvo un efecto negativo en el rendimiento de las gallinas ponedoras, por lo que esta investigación tuvo como objetivo estudiar las influencias de la betaína (Bet, 1000 mg/kg de betaína), la vitamina C (VC, 200 mg/kg de ácido ascórbico) y la vitamina E (VE, 150 mg/kg de acetato de α-tocoferol) y sus posibles combinaciones en la producción de huevos, la digestibilidad de los nutrientes, las hormonas plasmáticas y los órganos reproductivos de gallinas de doble propósito expuestas a estrés térmico crónico. Doscientas ochenta y ocho gallinas y treinta y seis gallos de 32 a 48 semanas de edad se dividieron en nueve grupos de tratamiento de cuatro réplicas, cada uno de los cuales contenía ocho gallinas y un gallo. Un grupo se mantuvo en condiciones termoneutrales y los otros ocho se mantuvieron bajo estrés térmico crónico (CHS). Uno de estos ocho se utilizó como control negativo, mientras que los otros se complementaron con VC, EV y/o betaína y sus posibles combinaciones. Se registraron los pesos corporales, la tasa de puesta, el consumo de alimento y el índice de conversión alimenticia en gallinas criadas bajo gallo CHS sin ningún tipo de suplementación durante 32 a 48 semanas de deterioro (P = 0.0052). Las gallinas criadas bajo estrés por calor y alimentadas con una dieta suplementada con Bet, VC, VE o una combinación de los suplementos aumentaron los rasgos de producción. Sin embargo, las gallinas suplementadas con VC mostraron los mayores rasgos de producción. La glucosa plasmática, estradiol-17 (E2), progesterona (P4), triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) disminuyeron en gallinas criadas bajo CHS y alimentadas con una dieta sin suplementación en comparación con los otros tratamientos (P = 0,001). El peso del hígado, el peso del bazo, el peso de la glándula tiroides, el peso de los ovarios, el peso del oviducto y la longitud del oviducto fueron más bajos en las gallinas criadas bajo CHS y alimentadas con una dieta sin suplementación (P = 0,0480). En conclusión, las gallinas de doble propósito criadas bajo CHS y suplementadas con VC a 200 mg/kg de dieta y Bet a 1000 mg/kg mejoraron el rendimiento de la puesta y combatieron el CHS.

El tracto gastrointestinal es un entorno biológico para la descomposición y absorción de nutrientes, así como para la defensa contra enfermedades y toxinas. El intestino se ve frecuentemente perturbado por diferentes factores estresantes, ya que es la mayor superficie corporal expuesta al medio ambiente. El epitelio intestinal de los pollos puede verse afectado por el estrés térmico (Brugaletta y cos 2022). El estrés hace que la barrera para celular regulada por la unión derecha se vuelva inestable y aumenta la permeabilidad del intestino. Los hallazgos de Quinteiro-Filho y cols 2010 revelaron que las aves sometidas a desafío térmico presentaban enteritis multifocal leve. Además, el microbiota intestinal se ve afectada por una amplia gama de factores relacionados con el huésped y el medio ambiente. En particular, el desafío térmico altera la composición del microbiota intestinal al disminuir las bacterias beneficiosas, pero aumentar las bacterias dañinas. Estudios anteriores muestran que el estrés por calor tuvo un impacto significativo en los organismos microbianos intestinales al aumentar el número de Coliformes spp., Clostridium perfringens y Escherichia coli mientras disminuía los niveles de Bifidobacterium y Lactobacillus spp., causando disbiosis. Un cambio en la composición del microbiota intestinal da lugar a un exceso de bacterias potencialmente peligrosas o a una disminución de las bacterias beneficiosas, lo que puede socavar el delicado equilibrio microbiano del intestino (Ducatelle y col 2018), lo que provoca una inflamación intestinal y una mala absorción de nutrientes. Por el contrario, un ecosistema microbiano equilibrado (eubiosis) mejoraría la salud intestinal, el metabolismo de los nutrientes, el rendimiento del crecimiento y la termo tolerancia de las aves. Por lo tanto, se necesitan más estudios para comprender la influencia de los desafíos térmicos en el microbiota y la salud intestinales.

El uso de antimicrobianos como método profiláctico para minimizar el efecto del estrés tanto en el microbiota intestinal como en la salud de las aves de corral es un tema de gran interés y preocupación en

la industria avícola. Con la prohibición actual de los antibióticos promotores del crecimiento, varios aditivos alimentarios han recibido una atención creciente en la industria avícola como alternativas naturales a los antibióticos. Estos incluyen aceites esenciales, ácidos orgánicos, simbióticos, prebióticos, probióticos, postbióticos, enzimas y fitobióticos como oleorresinas, productos botánicos y hierbas (Sayed y cols 2023). Además de su eficacia como promotores del crecimiento, también se ha demostrado que los prebióticos tienen un impacto beneficioso en el microbioma intestinal y el estado inmunológico de las aves durante el estrés por calor. La intensificación del uso de alternativas antibióticas naturales como promotores del crecimiento a gran escala proporciona sustitutos seguros y saludables que poseen una amplia gama de propiedades beneficiosas, como efectos inmunomoduladores, mejor digestión, mejor rendimiento, mejor absorción de nutrientes, mayor capacidad de absorción, mejor salud intestinal, menor riesgo de resistencia a los antibióticos y consumo seguro de productos avícolas.

El estrés por calor es uno de los factores ambientales que desafía a la industria avícola mundial y reduce el rendimiento y el bienestar de las aves, lo que conduce a pérdidas económicas significativas. Activa el sistema cortical hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, que libera un factor liberador de corticotropina del hipotálamo. Esto conduce a un aumento de los niveles de corticosterona. Los efectos nocivos del estrés por calor en las gallinas ponedoras incluyen la disminución del rendimiento de las gallinas ponedoras, la ingesta de alimento, la calidad de los huevos, la tasa metabólica y el estado inmunológico de las gallinas ponedoras. Además, el estrés por calor induce una regulación negativa de las hormonas metabólicas, los sistemas endocrinos, el equilibrio ácido-base, el equilibrio antioxidante y el mal funcionamiento fisiológico de los órganos digestivos y reproductivos internos. Por lo tanto, es importante mitigar el estrés térmico para mantener la máxima eficiencia de producción. Este artículo de revisión explora el impacto del estrés térmico en la producción, el comportamiento, la fisiología, la salud intestinal, el estrés oxidativo y las respuestas inmunitarias en gallinas ponedoras. Hace hincapié en los factores ambientales que contribuyen al estrés térmico y en las respuestas conductuales y fisiológicas del huésped.

La manipulación nutricional es un método aceptable para la mejora de los efectos del estrés térmico en las aves de corral y a menudo se aplica con otras estrategias de manejo, ambientales y genéticas. Implica manipulaciones dietéticas como la elevación de la densidad del alimento y la energía dietética, la suplementación con aditivos alimentarios, compuestos nutritivos, fitoquímicos, componentes bioactivos y otros nutracéuticos que ofrecerían efectos biológicos beneficiosos para aliviar los efectos del estrés por calor. Estas sustancias pueden actuar como anti estresores, moduladores del crecimiento, antioxidantes, antiinflamatorios, inmunomoduladores, modificadores intestinales, etc. Por lo general, el consumo de alimento y la ingesta de nutrientes disminuyen durante el estrés térmico en las aves, lo que afecta negativamente el rendimiento y la productividad de estas. Por lo tanto, modificar la composición de nutrientes para mejorar la ingesta de alimento de los pollos es una consideración importante durante el estrés por calor. Las estrategias de alimentación que maximicen la ingesta de alimento minimicen la carga de calor y alivien los efectos negativos del estrés por calor en las aves son altamente deseables para el manejo nutricional de las aves bajo altas temperaturas. Syafwan y cols (2011) informaron sobre varias estrategias de alimentación que pueden ayudar a reducir la carga de calor en las aves de corral, como la alimentación restringida durante los períodos calurosos para minimizar la carga de calor, la alimentación selectiva de ingredientes de alimentos ricos en proteínas o energía, el suministro de alimentos de diferentes tamaños de partícula o estructuras que ralentizarán el proceso de digestión y la alimentación con dietas húmedas para promover simultáneamente la ingesta de agua.

La retirada del alimento, que generalmente se practica durante 6 a 8 horas por día durante los períodos más calurosos del día, puede minimizar el incremento de calor y los efectos adversos del estrés por calor en las aves. La extracción de alimento limita la acumulación de carga de calor que se produce a partir del calor metabólico generado durante los procesos de digestión, absorción, asimilación y excreción del alimento. Por lo tanto, es importante limitar la alimentación a las horas frescas del día o preferiblemente alimentar durante la mañana, la tarde o la noche para minimizar los impactos del estrés por calor. El calor producido por el consumo de alimento es alto, de modo que la alimentación a las 06:00 h provocará una

carga máxima de calor entre las 09:00 y las 11:00 h. Por lo tanto, la alimentación hacia el mediodía acumularía efectos aditivos negativos, ya que el calor generado por la utilización del alimento coincidiría con la parte más calurosa del día, especialmente durante el período estival en las regiones tropicales y subtropicales. Con la retirada del alimento durante el día, la restricción temporal del alimento empleada antes de la exposición al calor mejora la resistencia térmica, reduce la producción de calor, limita el aumento de la temperatura corporal y minimiza la mortalidad de las aves estresadas por el calor. La práctica de la alimentación húmeda es considerablemente beneficiosa en comparación con la alimentación convencional con puré seco/pellets, ya que las aves pueden no consumir cantidades suficientes del alimento seco en condiciones de estrés térmico. Durante la temporada de verano, las gallinas ponedoras que recibieron alimento húmedo tuvieron un mayor índice de yema, peso de cáscara, porcentaje de yema, porcentaje de humedad y eficiencia de conversión alimenticia (Weiz y cols 2016a, 2016b), mejorando así el rendimiento de puesta y la productividad de las gallinas. Se recomendó la práctica de suplementar 1 parte de agua por 1 parte de alimento (50: 50) con agua potable para los pollos de engorde criados en los trópicos, ya que humedecer el alimento proporciona una ventaja adicional de suministrar alimento y agua a las aves estresadas por calor, lo que a su vez mejora la ingesta de alimento, la ingesta de materia seca, la ganancia de peso, el rendimiento de la canal, la tasa de conversión alimenticia, y el potencial de crecimiento de las aves.

El estrés térmico tiene un efecto negativo en el rendimiento de las gallinas ponedoras, por lo que esta investigación tuvo como objetivo estudiar las influencias de la betaína (Bet, 1000 mg/kg de betaína), la vitamina C (VC, 200 mg/kg de ácido ascórbico) y la vitamina E (VE, 150 mg/kg de acetato de α-tocoferol) y sus posibles combinaciones en la producción de huevos, la digestibilidad de los nutrientes, las hormonas plasmáticas y los órganos reproductivos de gallinas de doble propósito expuestas a estrés térmico crónico (Attia y cos 2016). Doscientas ochenta y ocho gallinas y treinta y seis gallos de 32 a 48 semanas de edad se dividieron en nueve grupos de tratamiento de cuatro réplicas, cada uno de los cuales contenía ocho gallinas y un gallo. Un grupo se mantuvo en condiciones termoneutrales y los otros ocho se mantuvieron bajo estrés térmico crónico (CHS). Uno de estos ocho se utilizó como control negativo, mientras que los otros se complementaron con VC, EV y/o betaína y sus posibles combinaciones. Se registraron los pesos corporales, la tasa de puesta, el consumo de alimento y el índice de conversión alimenticia en gallinas criadas bajo gallo CHS sin ningún tipo de suplementación durante 32 a 48 semanas de deterioro (P = 0.0052). Las gallinas criadas bajo estrés por calor y alimentadas con una dieta suplementada con Bet, VC, VE o una combinación de los suplementos aumentaron los rasgos de producción. Sin embargo, las gallinas suplementadas con VC mostraron los mayores rasgos de producción. La glucosa plasmática, estradiol-17 (E2), progesterona (P4), triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) disminuyeron en gallinas criadas bajo CHS y alimentadas con una dieta sin suplementación en comparación con los otros tratamientos (P = 0,001). El peso del hígado, el peso del bazo, el peso de la glándula tiroides, el peso de los ovarios, el peso del oviducto y la longitud del oviducto fueron más bajos en las gallinas criadas bajo CHS y alimentadas con una dieta sin suplementación (P = 0,0480). En conclusión, las gallinas de doble propósito criadas bajo CHS y suplementadas con VC a 200 mg/kg de dieta y Bet a 1000 mg/kg mejoraron el rendimiento de la puesta y combatieron el CHS.

Las altas temperaturas ambientales provocan una disminución del consumo de alimento por parte de las gallinas ponedoras y, como consecuencia, una reducción del rendimiento productivo y del peso del huevo (Freitas y cols 2017). La edad de las gallinas es un factor que influye en la calidad de la albúmina que tiende a ser más licuada en las gallinas más viejas. Dicha variable es analizada por la determinación de la Unidad Haugh. En el estudio se determinaron las correlaciones entre las variables calidad del huevo (peso del huevo y Unidad Haugh), las condiciones termohigrométricas en el establecimiento y la edad de las gallinas ponedoras y se evaluaron con base en el coeficiente de correlación de Pearson (r) y su significancia al nivel del 5%. Los datos micro climáticos y los huevos se recolectaron en 20 puntos de la instalación avícola con aves de 43, 56, 69, 79 y 86 semanas de edad, totalizando 100 muestras. Los resultados muestran correlaciones significativas entre el peso y la temperatura del huevo (r = -0,238), el peso del huevo y la

edad de las gallinas (r = 0,310), el índice de la Unidad Haugh y la edad de las gallinas (r = -0,256); una correlación no significativa entre los parámetros de calidad con la humedad relativa del aire en el interior de la nave. El peso del huevo tuvo una correlación negativa débil con la temperatura ambiente y una correlación positiva débil con la edad de las gallinas. En cuanto a la Unidad Haugh, se encontró una débil correlación negativa con la edad de los animales. La correlación débil o inexistente de la temperatura con los parámetros de calidad del huevo puede deberse a las condiciones ambientales que se mantuvieron en el rango de confort térmico para los animales durante el ensayo

Así mismo, Lara y Rostagno (2013),definen que una respuesta a estímulos adversos es difícil de definir y comprender debido a su percepción nebulosa. Según Selye [1], "el estrés es la respuesta inespecífica del cuerpo a cualquier demanda", mientras que el estresor puede definirse como "un agente que produce estrés en cualquier momento". Por lo tanto, el estrés representa la reacción del organismo animal (es decir, una respuesta biológica) a estímulos que perturban su equilibrio fisiológico normal u homeostasis. El estrés térmico es el resultado de un equilibrio negativo entre la cantidad neta de energía que fluye desde el cuerpo del animal hacia el entorno que lo rodea y la cantidad de energía térmica producida por el animal. Este desequilibrio puede ser causado por variaciones de una combinación de factores ambientales (por ejemplo, la luz solar, la irradiación térmica y la temperatura, humedad y movimiento del aire) y características del animal (por ejemplo, especie, tasa metabólica y mecanismos termorreguladores). Los factores estresantes ambientales, como el estrés por calor, son particularmente perjudiciales para la avicultura. El tema del estrés ambiental se ha convertido rápidamente en un gran punto de interés en la ganadería, particularmente debido a la conciencia y las preocupaciones del público. La importancia de las respuestas animales a los desafíos ambientales se aplica a todas las especies. Sin embargo, las aves de corral parecen ser particularmente sensibles a los desafíos ambientales asociados con la temperatura, especialmente el estrés por calor. Se ha sugerido que los genotipos de aves de corral modernos producen más calor corporal, debido a su mayor actividad metabólica. Comprender y controlar las condiciones ambientales es crucial para el éxito de la producción avícola y el bienestar. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es compilar el conocimiento actual y la evidencia disponible en la literatura científica (revisada por pares) que examina lo que se sabe sobre la importancia y el impacto del estrés por calor en la producción avícola, centrándose en pollos de engorde y gallinas ponedoras. Por lo tanto, comprender y controlar las condiciones ambientales es crucial para el éxito de la producción avícola y el bienestar. El estrés por calor es uno de los factores de estrés ambiental más importantes que desafían la producción avícola en todo el mundo. Los efectos perjudiciales del estrés térmico en los pollos de engorde y las gallinas ponedoras van desde la reducción del crecimiento y la producción de huevos hasta la disminución de la calidad y seguridad de las aves de corral y los huevos. Además, el impacto negativo del estrés térmico en el bienestar de las aves de corral ha atraído recientemente una mayor conciencia y preocupación pública. Se ha publicado mucha información sobre los efectos del estrés térmico en la productividad y la respuesta inmunitaria de las aves de corral. Sin embargo, nuestro conocimiento de los mecanismos básicos asociados a los efectos reportados, así como los relacionados con el comportamiento y el bienestar de las aves en condiciones de estrés por calor es de hecho escaso. Las estrategias de intervención para hacer frente a las condiciones de estrés por calor han sido el foco de muchos estudios publicados. Sin embargo, la efectividad de la mayoría de las intervenciones ha sido variable o inconsistente.

h. Nutrición de calcio para una excelente cascaron:

Una gallina ponedora requiere 2,2 g de calcio en promedio por cada huevo que pone. Alrededor de dos tercios de este calcio pueden suministrarse directamente a través de la dieta de la gallina, y un tercio mediante la movilización de calcio del hueso medular que se forma bajo la influencia de los estrógenos cuando el ave entra en puesta por primera vez (Bouvarel y cols 2011). El calcio derivado del hueso es necesario durante las etapas finales de la formación de la cascara, ya que esto tiene lugar durante la noche cuando el ave no se está alimentando. El hueso medular, a diferencia del hueso estructural, es capaz de

sufrir una rápida absorción y renovación. Desafortunadamente, la reabsorción del hueso estructural también ocurre causando los síntomas de la osteoporosis (Whitehead, 2004). La osteoporosis es causada por una disminución en la cantidad de hueso estructural completamente mineralizado, lo que conduce a la fragilidad ósea y la susceptibilidad a las fracturas, lo que la convierte en uno de los principales desafíos de bienestar para la industria de producción de huevos (Sandilands, 2011). Sin embargo, dentro de una parvada es posible observar aves individuales con alta productividad y buena resistencia ósea (Dunn y cols 2007). Se ha demostrado que la genética es importante, ya que alrededor del 40% de la variación en un índice de calidad ósea se debe a la genética (Bishop y cols 2000).

El índice de calidad ósea se utilizó con éxito para mejorar la resistencia ósea y reducir el daño esquelético (Fleming y cols 2004). Desafortunadamente, la medición del rasgo requiere que la gallina sea sacrificada y no es práctica en condiciones comerciales, pero los avances en las tecnologías de selección pronto podrían abordar esto. Por lo tanto, debería ser posible seleccionar para mejorar la resistencia ósea en las estirpes de larga vida, pero dado que la etiología de la osteoporosis es compleja y no solo está influenciada por la genética, sino también por el entorno de puesta y por la nutrición, la selección genética por sí sola no es la respuesta (Fleming y cols 2006). El suministro insuficiente de calcio en la dieta durante el período de cría o puesta tiene un efecto adverso en la calidad de la cáscara del huevo (Classen y Scott, 1982; Hartel, 1990) y la resistencia ósea (Whitehead, 2004). El requerimiento de calcio dietético de las gallinas ponedoras dentro de la dieta para diferentes edades es del orden de 0.9 a 1.2% durante el período de crecimiento de la pollita, aumentando a 2 a 2.5% justo antes del inicio de la puesta y 3.5 a 4.5% una vez establecida la puesta (Bouvarel y cols 2011).

No parece haber ningún beneficio de añadir más calcio o de utilizar un sistema de alimentación escalonado (3,5, luego 4,5 y finalmente 5,5%) para limitar el deterioro de la calidad de la cáscara por la edad (Keshavarz y Nakajima, 1993). La mejora de las reservas óseas de calcio depende más de la forma de calcio suministrado y del uso de partículas grandes de calcio. La mayoría de los huevos se ponen temprano en la mañana, justo después de que se encienden las luces. En consecuencia, la alimentación matutina probablemente no contribuye directamente a la formación de la cascara, ya que ésta no comienza hasta 5 h después de la oviposición. Del mismo modo, la alimentación de la tarde no está sincronizada con la formación de cascaron, ya que esta continúa durante toda la noche; sin embargo, un apetito específico por el calcio unas horas antes de que se apaguen las luces asegura que haya cierto almacenamiento de alimento, incluido el calcio, en el cultivo (Mongin y Sauveur, 1979). Se ha demostrado que encender las luces durante 2 h e introducir una alimentación a medianoche mejora la sincronización de la ingesta de calcio en la dieta con la formación de cáscara y mejora la calidad de la cáscara del huevo (Grizzle y cols 1992). Sin embargo, la directiva europea 1999/74/CE exige que las aves tengan 8 h de oscuridad ininterrumpida en cada período de 24 h, por lo que este tipo de programa de iluminación dividido está esencialmente prohibido en Europa.

Los estudios realizados por Keshavarz (1998) demostraron que el requerimiento diario de calcio no puede reducirse proporcionando a las gallinas niveles adecuados de calcio durante la tarde y niveles inadecuados de calcio durante la mañana. Por lo tanto, el calcio suministrado en la alimentación matutina es probablemente importante para reponer las reservas de calcio del hueso medular. Con el fin de optimizar la calidad de la cáscara del huevo, el tamaño de las partículas de calcio debe ajustarse en función de la densidad y la solubilidad de la fuente de calcio en partículas (de cantera o marina). Como regla general, se debe introducir una partícula gruesa de 1-2,4 mm con una baja solubilidad para suministrar dos tercios del calcio junto con una fuente marina altamente soluble como partículas de 2-4 mm (Bouvarel y Nys, 2013). Se ha demostrado que el contenido de lípidos en la dieta y el metabolito activo de la vitamina D3 influyen en la eficiencia de la absorción de calcio en la dieta en el tracto gastrointestinal, pero aún no se ha determinado cómo se relaciona esto con la transferencia de calcio en la glándula de la cáscara. Los altos niveles de fósforo o demasiada o muy poca sal (NaCl) en la dieta de las ponedoras también tienen un efecto perjudicial en la calidad de la cáscara del huevo y deben evitarse (Bouvarel y Nys, 2013). En

resumen, todavía hay mucho que aprender sobre la cinética de la retención intestinal de calcio a lo largo del día y este conocimiento será claramente valioso en el manejo de las capas de larga vida.

Se sabe que tanto el calcio dietético como el esquelético son la fuente de calcio de la cáscara de huevo. Se ha reportado la distribución de radiocalcio en la cáscara de huevo, la yema y los excrementos después de la administración oral de Ca45 para gallinas ponedoras por Itho y Hatano (1967). En estos experimentos, sin embargo, se determinó el contenido de radiocalcio en la cáscara entera del huevo y no se observaron tasas de absorción de radiocalcio en diferentes etapas durante la formación de la cáscara de un huevo. TYLER11)informó que la movilización de alimento y calcio esquelético para la formación de cáscaras fue proporcionada con evidencia directa por un experimento en el que se prepararon autorradiografías de secciones tangenciales de las cáscaras de los huevos puestos por gallinas alimentadas con Ca45 continuamente durante una semana. Se sugirió que las distribuciones de ambos tipos de calcio en cada cáscara de huevo se construyeron según el patrón individual. En el alimento y en el calcio esquelético que componía el calcio de la cáscara del huevo, hasta ahora, no había expresiones básicas para distinguir uno del otro, excepto el aspecto de la cáscara de huevo del radiocalcio de la dieta, y los significados de ellos carecían de precisión en algunos casos. Para establecer las líneas claras del calcio de la cáscara derivado del alimento y el calcio esquelético, es necesario conocer las relaciones entre la fase de ingestión y absorción del calcio de la dieta y la de formación de la cáscara del huevo en el útero. Parece que las tasas de deposición de cáscara de calcio de ambas fuentes se ven afectadas en gran medida por la capacidad de metabolización del calcio y la producción de huevos de las gallinas ponedoras. Además, estas tasas durante la formación de la cáscara de un huevo pueden verse considerablemente afectadas por el orden de los huevos en una nidada y la relación entre el tiempo de oviposición y la ingesta de alimento. En un estudio anterior6) realizado por ITOH y HATANO, las gallinas ponedoras fueron administradas por vía oral con radiocalcio por la mañana o por la tarde de forma continua durante diez días. La deposición de cáscara de huevo y la excreción diaria de Ca45 se observaron en gallinas individuales y día durante el período de 10 días y el período de 10 días siguiente sin administración de radiocalcio. Se informó que las tasas de deposición de cáscara de huevo de calcio en la dieta se vieron directamente afectadas por las diferencias en el tiempo de ingesta de alimento y la excreción de calcio se vio parcialmente afectada por la formación de cáscara de huevo en el útero. En este trabajo, se reportan los contenidos de radiocalcio en las cinco capas de cáscara de huevo y en los excrementos recolectados a intervalos de cuatro horas en muestras de huevos y excretas obtenidas durante los dos períodos consecutivos de 10 días del trabajo anterior6). Los cambios en las tasas de deposición de la cáscara del alimento y el calcio esquelético durante la formación de la cáscara de un huevo se discuten en las relaciones entre el tiempo de oviposición y el de la ingesta de alimento.

Korver 2020) describe que, al inicio del ciclo de producción de huevos, la gallina tiene la máxima cantidad de hueso estructural que tendrá, hasta que pasa por una muda. En las gallinas de alta producción, la pérdida de hueso estructural con el tiempo es inevitable, pero la clave es minimizar la velocidad a la que se pierde hueso estructural. Esto implica maximizar el grado en que el hueso medular actúa como una capa protectora en las superficies óseas estructurales y reducir la necesidad de movilizar el Ca óseo para apoyar la formación de cáscara de huevo. Por lo tanto, optimizar el suministro de Ca en la dieta es esencial para la salud esquelética a largo plazo y la calidad de la cáscara del huevo. Con reducciones moderadas en el Ca dietético de los niveles recomendados por las reproductoras, las gallinas ponedoras modernas pueden mantener altos niveles de producción de huevos y calidad de cáscara, con efectos mínimos en las reservas de Ca esqueléticas. Esto indica tanto una resistencia a ligeras reducciones en el suministro de Ca y P disponible como una capacidad para utilizar las reservas minerales óseas para apoyar la formación de cáscaras de huevo. Aunque las gallinas ponedoras modernas son más resistentes a la fatiga de las ponedoras enjauladas que en el pasado, su alto nivel de producción durante largos ciclos de puesta puede predisponerlas a problemas con la calidad del esqueleto y la cáscara a largo plazo.

Un huevo contiene aproximadamente un 10% de cáscara de huevo en peso, lo que significa que un huevo de 60 gramos contiene aproximadamente 6 g de cáscara, compuesta por aproximadamente un 95% de

$CaCO_3$, para un total de 2,3 g de Ca. Esta cantidad de Ca se obtiene, en proporciones variables, directamente de la dieta (absorbida por el intestino y transportada a través de la sangre a la glándula de la cascara), o del hueso (el mineral óseo, tanto el Ca como el P, es reabsorbido por los osteoclastos y el Ca transportado a la sangre a la glándula de la cascara. Aproximadamente del 60 al 75% del Ca de la cáscara se deriva directamente de la dieta en los días de formación de la cáscara (Driggers y Comar, 1949), y cuanto mayor es la proporción que proviene directamente de la dieta, mayor tiende a ser la calidad de la cáscara del huevo. Por lo tanto, los factores que aumentan la calidad de la cáscara también reducirán la necesidad de movilizar el Ca óseo y, por lo tanto, también tenderán a mantener la salud esquelética. En el día a día, la calidad de la cáscara del huevo se relaciona negativamente con la fortaleza ósea (Orban y Roland Sr, 1990). Es probable que esta relación también afecte a la salud a largo plazo del esqueleto, sobre todo porque las gallinas ponedoras modernas pueden mantener la calidad de la cáscara a expensas de la mineralización ósea (Bello y Korver, 2019).

Después del pico de producción, la capacidad de depositar Ca en la cáscara permanece relativamente constante (Roland Sr. Y cols 1975), lo que significa que los aumentos en el tamaño de los huevos después del pico de producción tenderán a resultar en una reducción de la calidad de la cáscara. Los requerimientos dietéticos de Ca tienden a aumentar, y los de fósforo (P) tienden a disminuir a medida que las gallinas envejecen. A medida que las gallinas envejecen, la eficiencia del metabolismo del Ca disminuye (Wistedt y cols 2019), y el aumento del Ca en la dieta y la ampliación de la relación Ca:P disponible pretenden contrarrestar esto. Se debe tener cuidado de no sobrealimentar con Ca, que puede reducir la calidad de los huesos y la cáscara del huevo (Kakhki y cols 2019) e interferir con la actividad exógena de la fitasa (Bello y Korver, 2019). El exceso de P en la dieta también puede reducir la calidad de la cáscara. Debido a su importancia en la absorción de Ca y P en el intestino, también se debe proporcionar una actividad adecuada de vitamina D en la dieta. La alimentación con el metabolito de la vitamina D 25-OH vitamina D3 puede ayudar a mantener la calidad del esqueleto y la cáscara en gallinas ponedoras de alta producción (Kakhki y cols 2019). Una gallina ovulará aproximadamente de 15 a 75 minutos después de la oviposición, y el óvulo tardará aproximadamente 4,25 horas en llegar a la glándula de la cascara (Roberts, 2004), momento en el que la calcificación tarda aproximadamente 17 horas (Hincke y cols 2012). Dado que las gallinas tienden a poner huevos por la mañana y a primera hora de la tarde, esta puede utilizar el Ca y el P de la dieta para reponer las reservas óseas medulares durante las primeras 5 horas después de la oviposición. Cuando el óvulo llega a la glándula de la cáscara, la demanda de Ca aumenta drásticamente para apoyar la formación de la cáscara del huevo. La mayor tasa de acreción mineral de la cáscara del huevo ocurre de 5 a 15 horas después de que el huevo ingresa a la glándula de la cáscara, correspondiente al final de la tarde y durante la noche antes de que se ponga un huevo. Si una gallina es alimentada con una dieta que contiene solo una fuente de Ca de partículas pequeñas, como piedra caliza finamente molida, el intestino se quedará sin una fuente de Ca durante la noche, cuando la demanda de Ca es más alta.

En ese momento, la gallina dependerá completamente del hueso Ca para apoyar la formación de la cáscara del huevo. Sin embargo, una partícula grande (2 a 4 mm), una fuente de Ca dietético disuelta lentamente se retendrá en la molleja durante un largo período de tiempo, y el Ca se liberará gradualmente para su absorción por el tracto digestivo, proporcionando así una fuente dietética directa de Ca durante toda la noche y reduciendo la necesidad de movilización de Ca óseo. Una combinación de 1/3 de partículas pequeñas y 2/3 de partículas grandes de fuentes de Ca proporcionará Ca fácilmente disponible para la gallina cuando comience la alimentación al comienzo del día (partícula pequeña), así como una fuente de liberación lenta para apoyar la formación de cáscara de huevo durante la noche (partícula grande). En condiciones de estrés térmico, el aumento de la tasa respiratoria puede causar un aumento en la pérdida de CO_2 del ave. Así misma, reduce la acumulación de iones de bicarbonato y provoca alcalosis respiratoria, un aumento del pH sanguíneo. Una reducción de iones de bicarbonato en la glándula de la cascara reduce la formación de $CaCO_3$ y disminuye la calidad del cascaron (Balnave y cols 1989). El estrés por calor también puede reducir la ingesta de alimento, reduciendo así la ingesta de Ca y la calidad de la cáscara

como consecuencia. La alimentación de medianoche es la adición de una o dos horas de luz en medio del período de oscuridad para que todas las aves consuman alimento. Las aves tenderán a disminuir su ingesta de alimento durante el día para reducir la termogénesis inducida por la dieta, y consumirán una proporción de su alimento diario durante la noche, cuando las temperaturas suelen ser más frescas. Por lo tanto, aumenta la ingesta diaria total de alimento terminado y por lo tanto también de calcio dietetico. La alimentación a medianoche también puede tener el beneficio de proporcionar una fuente dietética de Ca para apoyar la formación de cáscara de huevo durante la noche y reducir la dependencia de las reservas óseas. Si la luz suplementaria se proporciona con un número suficiente de horas de oscuridad antes y después, las aves no perciben la luz en medio de la noche como el comienzo de un nuevo día, y la regulación de la producción de huevos no se ve afectada.

Debido a que los requerimientos de Ca y P disponible de la gallina, así como la eficiencia de absorción de estos nutrientes fluctúan a lo largo del día, algunos investigadores han comenzado a investigar el concepto de alimentación dividida, en el que la composición de las dietas ofrecidas a la gallina se altera para reflejar los cambios en los requerimientos de nutrientes en el transcurso de un día (Molnar y cols 2018). Es necesario seguir trabajando para determinar si este enfoque puede tener éxito. En situaciones agudas de reducción de la calidad de la cáscara debido a errores en la mezcla del alimento (deficiencia de Ca), reducción de la ingesta de alimento debido a altas temperaturas ambientales u otros factores, puede ser posible proporcionar Ca adicional en el agua, o mediante el aderezo del alimento con partículas grandes de Ca. La suplementación de Ca con agua puede ser efectiva, pero se debe tener cuidado, ya que el uso prolongado puede provocar depósitos de cal en las líneas de agua y válvulas, y es posible que las gallinas no puedan regular su ingesta de Ca. La adicion de una fuente de Ca de partículas grandes requiere mucha mano de obra, pero permite que las gallinas tengan fácil acceso al Ca. Como las gallinas tienen apetito por el Ca y pueden regular la ingesta en función de la necesidad (Classen y Scott, 1982), es poco probable que las gallinas a las que se les suministra el alimento mejor consuman partículas de Ca. Se han utilizado otros enfoques para controlar la calidad del esqueleto y de la cáscara de huevo en las gallinas ponedoras. El cobre es un componente de la lisil oxidasa, el manganeso forma parte de las glicosiltransferasas, y el zinc se encuentra en la anhidrasa carbónica. Estos oligoelementos intervienen en la calcificación de la matriz de colágeno de la membrana de la cáscara, así como en la formación de la matriz orgánica del hueso.

Los minerales traza orgánicos pueden tener una mayor biodisponibilidad que las fuentes inorgánicas y aumentar la calidad de la cáscara (Stefanello y cols 2014). La calidad de la grasa de la dieta también puede influir en la calidad de la cáscara. Las grasas saturadas en la dieta pueden formar jabones insolubles que no son bien digeridos por las gallinas de postura, aunque el efecto puede ser mayor en pollos de engorde que en ponedoras. Los altos niveles de ingesta de sal reducen la formación de cáscaras de huevo (Balnave y cols 1989). Si el agua suministrada a las gallinas tiene un alto nivel de sodio, la adición de sal a la dieta debe reducirse en consecuencia. Existe evidencia de que, al mismo nivel de exceso, el sodio del agua tiene un mayor impacto negativo en la calidad de la cáscara en comparación con el sodio de la dieta. Además de la tendencia hacia ciclos de producción de huevos más largos, el alejamiento global del alojamiento en jaulas hacia sistemas de alojamiento más extensos también puede presentar desafíos adicionales. Aunque la oportunidad de aumentar el ejercicio puede aumentar la fuerza ósea en general, la mayor libertad de movimiento puede aumentar la incidencia de fracturas de quilla debido a colisiones con estructuras como las perchas. Además, la mayor exposición de las gallinas al polvo y las bacterias ambientales puede aumentar la inflamación sistémica, lo que a su vez podría reducir la calidad ósea (Tarlton y cols 2013) y la cáscara del huevo (Nie y cols 2018). Debido a que la formación ósea estructural no tiene lugar después del inicio de la puesta a menos que el ave pase por una muda, es imperativo que la calidad del esqueleto se mantenga en un nivel lo más alto posible durante todo el ciclo de puesta. Las condiciones que resultan en una movilización excesiva de mineral óseo para apoyar la formación de cáscara de huevo pueden resultar en un mayor riesgo de fracturas óseas con el tiempo. Esto no solo se traduce en una pérdida de productividad y una reducción del bienestar de las aves, sino también en daños irreparables en el esqueleto, siempre que la gallina esté puesta. Los impactos negativos se pueden manejar, pero no se

pueden revertir mientras las gallinas producen huevos. El desarrollo adecuado de las pollitas, el momento de la fotoestimulación para garantizar que las aves tengan suficiente desarrollo esquelético y el uso de factores nutricionales y de manejo para reducir el uso de Ca óseo para apoyar la formación de la cáscara del huevo son aspectos clave para mantener la salud esquelética y la calidad de la cáscara a lo largo de los ciclos de puesta largos.

Hester, (2017) reporta que, el metabolismo y el recambio del calcio en las gallinas ponedoras es extraordinario en comparación con los mamíferos debido a su papel en la formación de la cáscara del huevo. Una cáscara contiene 2 g de calcio, lo que corresponde al 10% del calcio corporal total de la gallina. Si una gallina pone 280 huevos en un año, secretará una cantidad fenomenal de calcio en sus cáscaras de huevo que equivale a unas 30 veces su reserva total de calcio corporal. Este capítulo describe la formación de huevos, la arquitectura ósea y cómo una gallina lucha por mantener la homeostasis del calcio mediante el uso del calcio del alimento y el hueso. Las repercusiones de un desequilibrio negativo de calcio incluyen fatiga de la capa de la jaula y osteoporosis, condiciones por las cuales el esqueleto se debilita debido a la pérdida de mineralización del hueso estructural. La genética, el ejercicio y la manipulación nutricional se identifican como estrategias para mantener la homeostasis del calcio en gallinas ponedoras hembras sexualmente maduras.

El hueso es una reserva mineral para las necesidades metabólicas y la formación de la cáscara de huevo, además de proporcionar soporte a los cuerpos de las aves. La debilidad ósea en las gallinas ponedoras ha causado muchos problemas, como deformación ósea, osteoporosis, fatiga de las capas de jaulas y fracturas. Estos problemas se traducen en pérdidas económicas y son perjudiciales para el bienestar animal. La resistencia a la rotura es un buen indicador de la salud y la resistencia del hueso y un aumento de la resistencia a la rotura en las gallinas ponedoras sería importante para disminuir las pérdidas económicas y mejorar el bienestar de los animales. Uno de los principales factores que afectan a la resistencia a la rotura ósea es la nutrición, ya que está estrechamente relacionada con el calcio, el fósforo, la vitamina D y el tamaño de partícula de la fuente de calcio en la dieta, especialmente cuando el calcio en la dieta es insuficiente. Se ha aceptado que la composición de la dieta, los oligoelementos, especialmente el boro, las vitaminas y los aditivos alimentarios desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la salud ósea y la mejora de la resistencia a la rotura del hueso en las gallinas ponedoras (Olgun y Aygun 2016).

Etches (1987) describe que se han calculado los cambios horarios en el contenido de Ca^{2+} de varios compartimentos fisiológicos en relación con la formación de la cáscara para la gallina doméstica a lo largo de una secuencia ovulatoria de 4 días. Estos cálculos consideran el ritmo circadiano en la ingesta de Ca^{2+} cuando la gallina es alimentada con un alimento completo o una dieta que contiene cascaron de ostra, el efecto de la etapa de la secuencia ovulatoria y la etapa de formación de la cascara. Los cálculos indican que el hueso medular acumula Ca^{2+} durante el día y que el Ca^{2+} se extrae de la reserva ósea durante la escotofase si la calcificación de la cascara está activa. Cuando se alimenta con Ca^{2+} como alimento identificable, la gallina ingerirá grandes cantidades de Ca^{2+} al final de la fotofase. Parte de este Ca^{2+} se almacena temporalmente en el hueso medular y el resto se dosifica en el tracto digestivo inferior durante la primera parte de la escotofase. Se sugiere que el aumento preovulatorio de estrógenos sensibiliza el hueso medular al efecto osteoclástico de la hormona paratiroidea, cuya producción es estimulada por una disminución en las concentraciones totales e ionizadas de Ca^{2+} durante la formación del cascaron.

Un total de 72 gallinas ponedoras H&N Brown Nick, de 76 semanas de edad (mudadas a las 60 semanas de edad), fueron asignadas aleatoriamente a un arreglo factorial 3 × 3 con tres tamaños de partícula de piedra caliza y tres concentraciones de Ca en la dieta (30, 36 y 42 g/kg de Ca); con 8 repeticiones por tratamiento, y una gallina (individual) por unidad experimental son reportados por Cufadar y cols (2011). Los tamaños de partícula de la caliza fueron: distribuciones menores a 2 mm (Fina), entre 2 a 5 mm (Mediana) y mayores a 5 mm (Grande). Las partículas de piedra caliza fina, mediana y grande se obtuvieron de la misma fuente, y los tamaños de tamiz utilizados tuvieron tamaños de pantalla de 2 mm y 5 mm. Las diferentes concentraciones de Ca en la dieta, el tamaño de partícula o las interacciones no tuvieron un

efecto significativo sobre la producción de huevos, el peso del huevo, la masa de huevos, la ingesta de alimento o la tasa de conversión alimenticia. Las concentraciones de Ca en la dieta y el tamaño de las partículas no tuvieron un efecto significativo sobre la resistencia a la rotura del huevo, la cáscara del huevo como % en peso del huevo entero o el grosor de la cáscara del huevo. Las interacciones entre las concentraciones de Ca y el tamaño de las partículas tuvieron un efecto significativo en la resistencia a la rotura de la cáscara del huevo, pero no en otros parámetros. Los diferentes tamaños de partícula de la dieta no tuvieron un efecto significativo en el contenido mineral de Ca, P y Mg de la cáscara de huevo. Si bien las diferentes concentraciones de Ca en las dietas tuvieron un efecto significativo en el contenido de P de la cáscara de huevo, no tuvieron un efecto significativo en los contenidos de Ca y Mg. Diferentes concentraciones dietéticas de Ca tuvieron un efecto significativo sobre el estrés cortante y los contenidos de Ca y Mg de las tibias, pero no otros parámetros. Además, el tamaño de las partículas de la dieta tuvo un efecto significativo sobre el estrés cortante y el contenido de Ca de las tibias. La interacción entre las concentraciones de Ca y el tamaño de las partículas tuvo un efecto significativo sobre la fuerza de cizallamiento de la tibia y el contenido de Ca. De acuerdo con los resultados de este estudio, las gallinas ponedoras marrones mudadas deben ser alimentadas con 36 g/kg de Ca y un tamaño de partícula de piedra caliza medio (2-5 mm) en la dieta para mantener el rendimiento, la cáscara del huevo y la calidad del hueso.

De igual forma, Saunders-Blades y cols (2009, estudiaron la eficacia de 3 fuentes locales de piedra caliza como fuentes potenciales de Ca para gallinas ponedoras. Se evaluó la solubilidad in vitro de las fuentes de piedra caliza. Se utilizaron cuatro fuentes de Ca (control, A, B o C) y 2 combinaciones de tamaño de partícula (molida, 100% molida; o mixta, 67% molida + 33% partícula grande). El control consistió en una caliza molida comercial para la fuente de Ca molida y una concha de ostra como la fuente de Ca de partículas grandes. Las gallinas ponedoras DeKalb fueron colocadas aleatoriamente en 32 unidades de jaulas en batería (n = 12/jaula). A las 19 semanas de edad, las gallinas recibieron 1 de 8 tratamientos de fuente de Ca y tamaño de partícula (4 repeticiones/tratamiento) hasta las 74 semanas. Se midió la producción de huevos, el consumo de alimento, el peso corporal y la calidad de los huevos. Al final de la puesta se evaluó la densidad mineral ósea (mediante tomografía computarizada cuantitativa), la resistencia a la rotura, las cenizas y el Ca. La solubilidad in vitro dependió de la fuente de Ca y del tamaño de partícula ($P < 0,0001$), y la concha de ostra generalmente tuvo una mayor solubilidad in vitro que las fuentes de piedra caliza de prueba A, B y C de tamaños de partícula similares. El consumo de alimento (100 a 117 g/ave por día), el peso corporal (1.500 a 1.800 g), la producción de huevos (92% de la producción máxima de huevos), el peso del huevo (55 a 67 g) y el peso específico del huevo (1,090 a 1,078) no difirieron entre las gallinas alimentadas con las diferentes fuentes de Ca ($P > 0,05$). La densidad mineral ósea de la tibia indicó que el tratamiento con concha de ostra tuvo una densidad trabecular más baja que la fuente de Ca A; sin embargo, todas las demás fuentes de Ca tuvieron una densidad mineral ósea similar para todas las medidas ($P > 0,05$). Las gallinas alimentadas con los tratamientos mixtos con partículas de Ca tuvieron consistentemente un mayor consumo de alimento de 27 a 70 semanas que las alimentadas con la fuente de Ca molida al 100% ($P < 0.05$). La mineralización ósea mejoró en las gallinas que recibieron los tratamientos con partículas mixtas de Ca ($P < 0.05$). En general, los resultados de este estudio indican que las fuentes locales de piedra caliza A, B y C serían alternativas adecuadas a las fuentes comerciales actuales de Ca para gallinas ponedoras. Además, las partículas grandes de Ca mejoraron la calidad ósea.

Araujo y cols (2911) informan que en este estudio se llevó a cabo para investigar los efectos de las dietas con diferentes niveles de calcio en la producción de huevos, la calidad de la cáscara y el estado general de calcio en gallinas ponedoras envejecidas. Un total de quinientas ponedoras Hy-Line Brown de 70 semanas de edad se dividieron en cinco grupos y se alimentaron con una de las cinco dietas experimentales con 3,5%, 3,8%, 4,1%, 4,4% o 4,7% de Ca, durante 10 semanas. No hubo diferencias significativas en la ingesta de alimento, la producción de huevos y el peso de los huevos entre los grupos. Los huevos rotos se redujeron linealmente a medida que los niveles de Ca en la dieta aumentaron a 4.7% ($p<0.01$). Se determinó una mejora lineal significativa para la fuerza y el grosor de la cáscara de huevo con el aumento

de los niveles de Ca en la dieta (p<0.01). Los contenidos de Ca sérico y fósforo no se vieron afectados por los niveles de Ca en la dieta. Con el aumento de los niveles de Ca en la dieta, la resistencia a la rotura tibial aumentó ligeramente. No hubo diferencias significativas en los contenidos tibiales de ceniza, Ca y fósforo entre los grupos. En conclusión, la calidad de la cáscara del huevo, medida por la apariencia, la fuerza y el grosor de la cáscara del huevo, estuvo influenciada por el contenido de Ca en la dieta como se esperaba (p<0.05). Estos resultados sugirieron que las gallinas ponedoras envejecidas requieren un nivel relativamente más alto de Ca que los niveles requeridos por los estándares actuales de alimentación coreana para las aves (An y cols 2016). Este experimento se llevó a cabo para evaluar el efecto de los niveles de calcio (Ca) y el tamaño de partícula de piedra caliza (LS) para gallinas ponedoras. Se utilizaron 216 gallinas ponedoras Dekalb White de 25 a 49 semanas de edad en un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 × 2, compuesto por tres niveles de calcio (3.92, 4.02 y 4.12%) y dos tamaños de partícula de piedra caliza (delgada - 0.60 mm; y gruesa - 1.00 mm), dando como resultado 6 tratamientos con seis repeticiones de seis aves. No hubo un efecto significativo de los niveles de calcio y tamaño de partícula de piedra caliza ni de la interacción calcio × tamaño de partícula para la ingesta de alimento, peso del huevo, peso específico, grosor de la cáscara, porcentaje de cáscara, unidad de Haugh, digestibilidad de calcio y fósforo y porcentaje del tracto digestivo. La producción, la masa, la conversión por masa y la conversión por docena de huevos tuvieron sus mejores resultados con un 4,12% de calcio en la dieta. El porcentaje de molleja y el consumo de alimento observados a las 3:00 p.m. mejoraron a medida que la granulometría de la piedra caliza mejoró de 0.60 a 1.00 mm. Hubo un efecto de interacción entre el nivel de calcio y la granulometría de piedra caliza para la resistencia a la rotura de la tibia, la densidad ósea, la longitud del intestino delgado y la ingesta de alimento a las 6:00 a.m.; 9:00 a.m., 12:00 p.m., 6:00 p.m. y 9:00 p.m., respectivamente. Se recomienda la adición de 4.12% de calcio y piedra caliza en la granulometría gruesa (1.00 mm) para un mejor desempeño de las gallinas ponedoras comerciales. Se necesitan más estudios para dilucidar los mecanismos implicados en la alteración del comportamiento nutricional de las gallinas ponedoras en respuesta a cambios en los niveles de calcio y en la granulometría de la piedra caliza en las raciones.

Mongin y Saveur (1975) describen dos experimentos, cada uno de 40 d de duración, en los que se alimentó ad libitum a cuatro gallinas ponedoras con una dieta rica en calcio (3,5% de Ca) o una deficiente en calcio (1% de Ca), pero con concha de ostra ofrecida por separado. El consumo voluntario de alimento y concha de ostra se registró automáticamente cada 2 h. El consumo horario de la dieta alta en Ga aumentó durante la tarde, mientras que el patrón de consumo diario se modificó por la posición del huevo en la nidada. Cuando la dieta baja en Ca se alimentó con concha de ostra, se aumentó el consumo diario, pero se redujo el efecto de la posición del huevo en la nidada. La ingestión de concha de ostra fue muy alta entre las 16.00 y las 20.00 h cuando la calcificación del huevo estaba en curso; Después de la última oviposición del embrague, este elevado nivel de admisión se mantuvo, aunque en menor grado. En relación con la etapa de formación del huevo, la ingesta voluntaria de concha de ostra aumentó bruscamente entre 4 y 12 h después de la oviposición anterior. Estos resultados confirman que la gallina ponedora puede discriminar entre la ingesta de alimentos y calcio. Parece que el apetito por el calcio está relacionado en primer lugar con los ciclos de luz-oscuridad con una modulación del pico de la tarde por la ovulación y luego la calcificación de la cáscara del huevo.

Bolden y Jensen (1985) reportan que, se llevaron a cabo tres experimentos con gallinas ponedoras White Leghorn para estudiar el efecto de los cambios en la composición de los ingredientes de las dietas que varían en el nivel de calcio en varios parámetros. Se compararon los niveles de calcio al 2,75 y al 3,5% en una dieta de maíz-soja (CS) o en dietas que contenían harina de alfalfa, granos secos de destilería con solubles (DDGS), levadura torula, harina de pescado o una combinación de harina de pescado, harina de alfalfa y levadura torula. La resistencia a la rotura de huevos en dos de los tres experimentos mejoró significativamente con un mayor calcio, mientras que la tasa de producción de huevos mejoró solo en uno. La calidad de la cáscara del huevo no se vio afectada significativamente por los cambios en la composición de los ingredientes. Sin embargo, el calcio en el plasma de las gallinas alimentadas con la dieta CS fue

significativamente más alto que en las gallinas alimentadas con todas las dietas más complejas, excepto la que tenía DDGS. Tanto el calcio difusible como el no difusible se vieron afectados. El calcio plasmático fue elevado por el calcio dietético más alto en solo uno de los tres experimentos. No se observaron diferencias significativas en la ceniza tibial, el estradiol plasmático, el fósforo plasmático o el peso del huevo.

Angel (2011) comenta que, la cantidad de literatura que se centra en los requisitos de Ca y P para las gallinas ponedoras es aún más limitada que para los pollos de engorde. De todas las especies de aves de corral, la industria de las gallinas ponedoras suele alimentar con mucho más P en relación con el requerimiento, en gran parte debido a la preocupación por la mineralización inadecuada de las cáscaras de los huevos y las anomalías esqueléticas que dan lugar a una producción deficiente de huevos, una morbilidad que da lugar a problemas de bienestar y productividad, y mortalidad. Debido a la selección previa de ciertas cepas de gallinas ponedoras para una maduración temprana y al aumento del tamaño de los huevos, las gallinas suelen ser alimentadas con 350 a 450 mg de nPP/gallina/día, lo que una investigación reciente considera que es casi el doble de lo que se requiere. En el caso de las gallinas ponedoras, hay que tener en cuenta la duración de los estudios, así como la genética de las aves, el consumo de alimento y la tasa de puesta. El Ca tiene un control homeostático muy estricto, lo que hace que la gallina ponedora mantenga las concentraciones de Ca iónico en sangre incluso durante las deficiencias, siempre que estas no sean de larga duración. Para ello, la gallina ponedora movilizará el Ca y el P de los huesos largos (huesos medulares), excretando el P porque no es necesario a los niveles movilizados y el Ca utilizado para la producción principal de huevos y los niveles homeostáticos de la sangre hasta que el ave simplemente no pueda mantenerse en pie. Este resumen contiene referencias seleccionadas que muestran la variabilidad en los resultados publicados y las posibles razones por las que se realizan.

Los requerimientos para las aves Leghorns blancas entre las 18 y las 50 semanas de edad eran de 0,13 % aP o 0,14 g aP/h/d cuando se alimentaba con una dieta de maíz, harina de soja, harina de girasol y harina de gluten de maíz que contenía 4% de Ca (consumo de 4,2 g/h/d de Ca). Gordon y Roland (1997) informaron de un requerimiento de 0,3% de nPP (0,27 g/h/d de nPP consumido) para las gallinas Hy Line W-38 alimentadas con dietas a base de harina de maíz y soja que contenían 2,8% de Ca (2,5 g Ca/h/d consumidos) durante 6 semanas. Dos estudios a largo plazo (20 a 60 o 20 a 70 semanas) un requerimiento de 0,15 aP (0,15 g/h/d aP consumido) en una dieta a base de harina de maíz y soja que contenía 3,8% de Ca. Estos autores también alimentaron con fitasa y encontraron que cuando la fitasa se agregó a la dieta de aP más baja (0,1%) a 100 U/kg, el rendimiento y la mineralización ósea volvieron a los niveles de control. Un trabajo reciente sugiere que el requerimiento de aP en gallinas Hy-Line W-98 alimentadas con dietas a base de harina de maíz y soja que contenían 3,49% de Ca (4,4 g/h/d de Ca consumido) fue de 0,16 % de aP (0,2 g/h/d de aP consumido) en un experimento de 120 semanas. Cuando el experimento se extendió por 24 semanas más y el consumo de alimento se controló a 100 g/h/d, el requerimiento aumentó a 0,24% aP (0,2 g/h/d aP consumido). No se encontraron diferencias en el rendimiento (cambios en el peso corporal, índice de conversión alimenticia/docena o por kg de huevo producido, medidas de calidad del huevo) cuando las ponedoras Hisex Brown de 58 semanas de edad fueron alimentadas con dietas que contenían entre 3 y 4,5% de Ca y 0,34% de aP durante 84 días.

Se alimentaron gallinas Lohman-Brown Classic de 23 semanas de edad durante 15 semanas con una dieta de 2,6 o 3,8% de Ca que contenía 0,33% de P total y 0,1% de nPP con o sin fitasa. Las ponedoras alimentadas con la dieta de 0,26% de Ca sin fitasa perdieron peso, exhibieron una producción de huevos y una masa de huevos deprimidas y tuvieron una tasa de conversión alimenticia deteriorada y cenizas tibiales más bajas en comparación con las alimentadas con la dieta de 3,8% de Ca. Los cambios en el rendimiento no se observaron hasta 6 semanas después del experimento. La fitasa mejoró la productividad en ambos niveles de Ca, lo que sugiere que el 0,1% de nPP en las dietas era deficiente. La inclusión de fitasa en la dieta de 2,6% de Ca y 0,1% de nPP no pudo restaurar el rendimiento ni la ceniza ósea a niveles de control. Se alimentaron gallinas con dietas que contenían 4,38 o 3,73% de Ca y 0,44%

de aP a Lohman Selected Leghorns de 21 semanas de edad durante 52 semanas (72 semanas de edad). Las gallinas ponedoras alimentadas con 4.38% de Ca fueron más ligeras a las 72 semanas de edad, pero habían producido más huevos con una masa de huevos similar a la de las alimentadas con 3.73% de Ca. El tipo de alojamiento (jaulas tipo aviarios vs. jaulas convencionales) tuvo un mayor impacto en la ceniza tibial, siendo las gallinas en jaulas amuebladas las que tuvieron mayor ceniza ósea. Esto sugiere que el requerimiento total de Ca para estas gallinas puede estar más cerca del 3,73% de Ca. Como se puede ver en el breve resumen anterior, los requisitos para las gallinas ponedoras son muy variables, oscilando entre el 0,1% de aP y el requerimiento del 0,32% y los consumos oscilan entre 0,14 y 0,4 g/h/d Como se dijo anteriormente al evaluar la literatura sobre los requisitos de Ca y P para las gallinas ponedoras, la raza, el nivel de Ca, los ingredientes utilizados en la dieta, El consumo de alimento, la edad de las gallinas y la duración del estudio son fundamentales en la evaluación del requerimiento de calcio dietético de ponedoras comerciales.

Se llevaron a cabo experimentos para determinar si el requerimiento diario de proteína, P y Ca de las gallinas ponedoras puede reducirse proporcionando a las gallinas niveles adecuados de estos nutrientes solo durante las horas del día en que la necesidad fisiológica de estos nutrientes para la formación de varios componentes de los huevos está aumentando. En el experimento 1, las aves del control positivo fueron alimentadas con una dieta de 16% de proteína y las aves del testigo negativo fueron alimentadas con una dieta de 13% de proteína de forma continua durante el período de luz (0500 a 2100 h). Los otros grupos fueron alimentados con la dieta de 16% de proteína durante la mañana (0500 a 1300 h) y la dieta de 13% de proteína durante la tarde (1300 a 2100 h) o viceversa. El diseño del experimento 2 era similar al del experimento 1. Las aves del control positivo fueron alimentadas con un 0,4% de P (PA) disponible y las aves del control negativo fueron alimentadas con una dieta de 0,2% de PA, mientras que otros grupos recibieron las dietas de PA alta-baja o baja-alta durante la mañana y la tarde, respectivamente. Las aves de los controles negativos en estos experimentos tuvieron un rendimiento casi comparable al de las alimentadas con los otros tratamientos dietéticos. Como resultado, estos experimentos no tuvieron controles negativos para la comparación de diferentes tratamientos dietéticos. Además, independientemente de los tratamientos dietéticos, las aves consumieron alrededor del 40% de su ingesta diaria de alimento durante la mañana y alrededor del 60% durante la tarde en estos experimentos. Debido a estas dos deficiencias, no fue posible llegar a una conclusión decisiva en relación con los objetivos del experimento 2. Los resultados del experimento 3 indicaron que el patrón anterior de ingesta diaria de alimento no se debió a un aumento del apetito por Ca durante las horas de la tarde para la formación de la cascara. Varios índices de calidad de la cáscara no mejoraron cuando la mayor parte de la necesidad diaria de Ca se alimentó durante la tarde y la noche y no se redujeron cuando la mayor parte de la necesidad diaria de Ca se alimentó durante la mañana (Keshavarz 1998a).

Attia y cols (2020) reportaron que los rasgos productivos y la inmunidad en las gallinas ponedoras disminuyen drásticamente durante la fase tardía de la puesta debido al envejecimiento, lo que afecta negativamente el metabolismo y el estado hormonal de los animales. Se investigó la influencia de los niveles de Ca (3,5, 4,0 y 4,5%) y/o la suplementación con colecalciferol [vitamina D3 (VD3)] (dieta de 800, 1.000 y 1.200 UI/kg o un total de 3.800, 4.000 y 4.200 IC VD3) sobre el rendimiento, la calidad de los huevos, la bioquímica sanguínea y la inmunidad de las ponedoras de huevos marrones. Trescientas sesenta ponedoras de huevos H&N Brown (60 semanas de edad) fueron asignadas al azar a nueve tratamientos nutricionales de cinco repeticiones (jaulas) de ocho gallinas cada una. La dieta control en este experimento contenía un nivel de Ca del 3,5% con 800 UI VD3. La adición de VD3 a 1.000 y 1.200 UI a dietas de 3,5 y 4% de Ca significativamente ($P \leq 0,05$) aumentó significativamente la tasa de puesta, la masa de huevos y el índice de conversión alimenticia (FCR) en comparación con la dieta control con 3,5% y 800 U de VD3. Además de esto, la adición de VD3 a 800 y 1.200 UI a dietas con niveles de Ca al 3,5% mejoró la puntuación de la unidad de Haugh. Se observaron resultados similares en las mediciones de la calidad de la cáscara de huevo y en la ceniza de tibia. El aumento de la concentración de Ca de 3,5 a 4 y 4,5% y el aumento de los niveles de VD3 de 800 a 1.000 o 1.200 UI aumentaron significativamente y de

manera similar la proteína total sérica y la globulina. Además, VD3 a 1.000 UI aumentó la albúmina sérica, en comparación con 800 UI. El aumento del nivel de Ca aumentó la IgA, y los niveles de Ca del 4 y 4,5% aumentaron de manera similar la IgG y la globulina α-2 en comparación con la dieta de Ca al 3,5%. La adición de VD3 a 1.200 UI a la dieta de Ca al 4% aumentó significativamente la γ-globulina en comparación con 1.000 UI, pero disminuyó la β-globulina. El aumento del nivel de Ca al 4% redujo significativamente los triglicéridos séricos, y la lipoproteína de muy baja densidad y la relación triglicéridos/lipoproteínas de alta densidad disminuyeron con dietas de 4 y 4,5% de nivel de Ca. El aumento del nivel de Ca provocó un aumento gradual de la catalasa, que se incrementó notablemente con la suplementación con VD3 a 1.200 UI. El estrógeno plasmático aumentó considerablemente con la suplementación con VD3 al 3,5% de Ca, pero los niveles de hormona paratiroidea no se vieron afectados. En conclusión, aumentar los niveles de Ca en la dieta de las gallinas ponedoras al 4% durante la fase final de producción podría ser una herramienta útil para mejorar el rendimiento de la ponedora, la calidad de la cáscara del huevo, la puntuación de la unidad de Haugh y el estado fisiológico e inmunológico. Además, VD3 a una dieta de 1.000 UI/kg a 3,5% de Ca mejoró el rendimiento de las gallinas alimentadas con 3,5% de Ca, lo que demuestra que el impacto potencial de VD3 depende de las concentraciones de Ca.

Así mismo Cohen y cols (1978) reportan que, se realizó un estudio con gallinas ponedoras para evaluar los efectos del colecalciferol (CC), el 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-CC) y el 1α-hidroxicolecalciferol (1α-OH-CC) sobre la absorción de calcio, la proteína de unión al calcio intestinal y uterina (CaBP) y la calidad de la cáscara del huevo. La absorción de calcio fue significativamente mayor en las gallinas alimentadas con 1α-OH-CC durante los períodos de formación de la cáscara del huevo en comparación con las gallinas alimentadas con CC o 25-OH-CC. Durante los períodos de inactividad uterina no hubo diferencias significativas en la absorción de calcio entre los grupos. La CaBP intestinal también fue significativamente mayor en las gallinas alimentadas con 1α-OH-CC. La CaBP uterina no se vio afectada por la fuente de vitamina D. El consumo de alimento fue menor en las gallinas alimentadas con 1α-OH-CC que en las alimentadas con CC o 25-OH-CC. Las gallinas alimentadas con 1α-OH-CC redujeron significativamente el peso de los huevos y la masa diaria de huevos. El peso y la densidad de la cáscara no se vieron afectados por la fuente de vitamina D. El 25-OH-CC no afectó a ninguno de los parámetros medidos. Los resultados muestran que ni el 25-OH-CC ni el 1α-OH-CC afectan al transporte de calcio uterino cuando se utilizan a niveles fisiológicos, aunque este último estimula considerablemente la absorción de calcio.

Bölükbasi y cols (2005) informan que este experimento se llevó a cabo para investigar el efecto del nivel de calcio y vitamina D en la dieta sobre las concentraciones de calcio y fósforo en plasma y cáscara de huevo de gallinas ponedoras en el último período de producción. Doscientas cuarenta gallinas ponedoras Lohman LSL blancas de 70 semanas fueron asignadas aleatoriamente a diez grupos por igual (n=24), cada tratamiento se repitió seis veces. Las dietas experimentales se prepararon adicionando calcio a niveles de 0, 1, 1,5, 2 y 2,5% a la dieta basal con y sin vitamina D (3000 UI/kg) respectivamente (T1 e.t T10). Todas las dietas fueron isocalóricas e isonitrogenadas, el estudio tuvo una duración de ocho semanas. En este estudio se evaluaron las concentraciones plasmáticas de Ca y P, Ca y P de cáscara de huevo. Se midieron todos los parámetros de Ca y P plasmáticos, los niveles de Ca y P de cáscara de huevo se vieron afectados por los tratamientos dietéticos de forma estadísticamente significativa ($P< 0,01$). La suplementación con calcio aumentó significativamente ($P<0.01$) el nivel de Ca plasmático de forma lineal, al igual que el aumento del nivel de Ca en la dieta. La suplementación con Ca también causó diferencias significativas tanto en los niveles de Ca como en los de P de la cáscara de huevo y en las concentraciones plasmáticas de P. La concentración de Ca de cáscara de huevo de la T5 (suplementando 1,5% de Ca) fue significativamente mayor que la de los alimentados con las otras dietas. Sin embargo, el nivel más alto de P en la cáscara del huevo se encontró en T7 (añadiendo 2 % de Ca), independientemente de la vitamina D en la dieta. En cuanto a la suplementación con vitamina D ($P<0.01$) aumentó significativamente la concentración de Ca tanto en plasma como en cáscara de huevo. La suplementación con vitamina D también aumentó la concentración de P en plasma.

Pelicia y cols (2009) reportan que en este experimento se estudió el efecto de cuatro niveles de calcio (3.0, 3.5, 4.0 y 4.5%) y cuatro niveles de fósforo disponibles (0.25, 0.30, 0.35 y 0.40%) en la dieta de ponedoras comerciales semipesadas después de la muda. Las ponedoras Hisex Brown® entre 90 y 108 semanas de edad se distribuyeron en un diseño experimental completamente aleatorizado con un arreglo factorial 4x4 con 16 tratamientos de cinco repeticiones de ocho aves cada uno. mortalidad, producción de huevos, consumo de alimento, masa de huevos, peso promedio de huevos, ingesta de calcio y fósforo, índice de conversión alimenticia (por docena de huevos y por kg de huevos), porcentaje y grosor de cáscara de huevo, fuerza de cáscara de huevo, peso de cáscara de huevo por superficie (ESWSA), porcentaje y color de yema, porcentaje de albúmina, alturas de albúmina y yema, y concentraciones de calcio y fósforo en sangre y excretas. No hubo interacción (P>0,05) entre el Ca dietético y el avP para ninguno de los parámetros estudiados. Hubo incrementos lineales en la ingesta de Ca (P<0.01), porcentaje de cáscara de huevo (P<0.05); ESWSA (P<0.05); color de la yema (P<0.05); Concentración de Ca en la sangre (P<0.05) y excretas (P<0.01) a medida que aumentaba el nivel de Ca en la dieta. La ingesta de avP aumentó linealmente (P<0,01) con los niveles de avP en la dieta. El resto de los parámetros no fueron influenciados (P>0,05) por los niveles de Ca y avP en la dieta. La dieta que contenía 4,5% de calcio mejoró el índice de conversión alimenticia por docena de huevos y la calidad de la cáscara del huevo. El nivel más bajo de avP alimentado (0,25%) es suficiente para mantener el rendimiento y la calidad del huevo de las ponedoras comerciales semipesadas después de la muda.

La suplementación con fitasa exógena aumenta la disponibilidad de P y Ca para permitir las reducciones dietéticas sin consecuencias negativas en la productividad o la salud esquelética. Se evaluaron por Bello y cols (2020) los efectos de una fitasa Buttiauxella sp. (BSP) suplementada en dietas disponibles reducidas en P (avP) y reducidas en Ca sobre el rendimiento, el peso corporal, la calidad de la cáscara del huevo, los marcadores óseos bioquímicos séricos y la densitometría ósea en gallinas ponedoras de 68 a 78 semanas de edad. Cien gallinas fueron alimentadas con 1 de 5 dietas (n = 20/tratamiento), incluyendo un control positivo (PC) con 0,35% de avP y 3,5% de Ca, y el PC redujo moderadamente los niveles de avP y Ca en 0,187 y 0,159% de la dieta (en 53 y 4,5%), respectivamente, (NC1) o severamente reducido en 0,231 y 0,275% de la dieta (en 66 y 7,9%), respectivamente, (NC2). Otras dietas fueron la NC1 o NC2 suplementada con BSP a 600 FTU/kg (NC1 + BSP o NC2 + BSP, respectivamente). La producción de huevos y la tasa de conversión alimenticia se mantuvieron con NC1, pero fueron un 11,9% más bajas y un 12,3% más altas, respectivamente, con la NC2 que, con la PC, lo que se alivió con la BSP suplementaria. Los efectos de la dieta sobre el IF y la calidad de la cáscara de huevo siguieron un patrón similar. El peso corporal fue 2,9% menor para NC1 y 6,1% para NC2 que para PC; El BSP alivió la disminución del peso corporal. La piridinolina sérica (marcador de resorción ósea) fue entre un 20 y un 27% más alta en las gallinas NC2 que en los otros grupos, sin efectos sobre otros marcadores óseos. La densidad mineral ósea total y del espacio trabecular en la metáfisis proximal fue 8,4 y 15,2% menor para NC1, respectivamente, y 12,1 y 26,7% menor para NC2, respectivamente, que CP. La BSP suplementaria alivió completamente la disminución de las medidas de densitometría ósea en NC1, pero solo parcialmente en NC2. Las gallinas NC1 mantuvieron el rendimiento, pero tuvieron un peso corporal y una calidad ósea disminuidos; La suplementación con fitasa restauró la productividad, el peso corporal y la calidad ósea. Las deficiencias de Ca y avP en las gallinas NC2 en relación con otros grupos se aliviaron parcialmente con la BSP de 600 FTU/kg.

Lukić y cols (2011) mencionan que, el metabolismo del calcio (Ca) en las ponedoras depende de muchos factores que se pueden dividir en factores que influyen en la ingesta, absorción, retención y/o excreción de Ca. Variación de cualquiera de los factores mencionados anteriormente presentados y revisados en este estudio, exhiben su impacto en la calidad de los huesos en ponedoras y la calidad de la cáscara del huevo. Con el fin de mantener la calidad de los huevos y la calidad de los huesos de las gallinas ponedoras, debe tenerse en cuenta en la práctica la influencia de los factores mencionados en la producción y, sobre esa base, no sólo se debe determinar el nivel adecuado de Ca en la dieta, sino también la fuente y el tamaño adecuados de las partículas de Ca, así como el equilibrio mutuo con otros nutrientes de la dieta. principalmente fósforo, vitamina D y algunos microelementos. Estudios recientes tienen la dirección de

encontrar el enfoque más complejo para resolver los problemas de la calidad de la cáscara del huevo, también la calidad del hueso y garantizar una nutrición adecuada para los híbridos de ponedoras modernas.

i. Nutrición de la ponedora moderna de larga vida:

La ciencia y la práctica de la nutrición avícola han cambiado mucho en los últimos cien años, pasando de ser una empresa de traspatio a la producción moderna controlada por computadora de dietas completas formuladas con composiciones de nutrientes específicas. Esto ha sido posible gracias a la identificación de nutrientes individuales y sus funciones metabólicas. Aunque la palabra "proteína" se utilizó por primera vez en 1834, no fue hasta la década de 1950 cuando comenzó la avalancha de investigaciones sobre las necesidades de proteínas y aminoácidos de las aves de corral. El contenido energético de los alimentos terminados no se convirtió en una consideración hasta la década de 1940, cuando se introdujo el concepto de energía metabolizable. El término "vitamina" se propuso por primera vez en 1912 para describir la esencialidad de la tiamina. Más tarde, el término se amplió para abarcar otros compuestos esenciales necesarios en pequeñas cantidades. En la década de 1940 se habían identificado las 12 vitaminas restantes, y en la década de 1970 se descubrió la importancia de los metabolitos de la vitamina D. La importancia del calcio y el fósforo tanto para las aves en crecimiento como para las ponedoras se identificó en las primeras etapas de la cría de aves de corral y se establecieron las necesidades y las proporciones dietéticas. Más recientemente, la introducción de la fitasa termoestable para los alimentos balanceados ha permitido reducir las concentraciones de fósforo y calcio. También se han desarrollado enzimas carbohidrasas para su adición a los alimentos avícolas. Se identificó la importancia del sodio, el fósforo y el cloruro en el mantenimiento del equilibrio electrolítico. Los oligoelementos generalmente se complementaban en las dietas como sales inorgánicas, pero en los últimos años se ha descubierto que los quelatos o proteinatos orgánicos se absorben de manera más eficiente. Los antibióticos se utilizaron ampliamente como promotores del crecimiento, pero su prohibición, especialmente en Europa, ha llevado a la búsqueda de aditivos alternativos con beneficios para el crecimiento o la salud. La nutrición de las aves de corral es ahora un tema científicamente maduro, pero cabe esperar que continúen los cambios en la práctica industrial, aunque probablemente a un ritmo más lento que en los últimos años (Elwinger y cols 2016).

Elliot (2012) describe que, la mayoría de los programas comerciales de alimentación de gallinas ponedoras se basan en el nivel de consumo, la producción, la masa de huevos y la edad. Esto puede sonar simple, pero no hace mucho tiempo que todos los productores tenían que trabajar con dietas individuales de fase 1, fase 2, fase 3 y fase 4 asignadas por edad y alimentadas durante todo el año, independientemente del nivel de consumo y producción. Un programa de alimentación moderno puede contener cerca de 100 dietas diseñadas para cada etapa de producción, con cada dieta diseñada para un nivel específico de ingesta de alimento. Esto permite al nutricionista apuntar a objetivos específicos de ingesta de nutrientes en cada etapa de la producción, independientemente de la ingesta. En la actualidad, todas las empresas de mejoramiento primario incluyen objetivos de ingesta de nutrientes en sus guías de gestión. En los últimos 20 años, la mayoría de los nutricionistas comerciales de gallinas ponedoras han pasado de dietas formuladas a base de proteína cruda dietética, metionina y lisina totales a dietas basadas en aminoácidos digeribles formulados en una proporción específica. Por lo tanto, a medida que el potencial genético de la ponedora moderna ha mejorado, los niveles de ingesta de aminoácidos y proteínas brutas de la dieta comercial de ponedoras han ido disminuyendo constantemente a medida que los nutricionistas se sienten más cómodos con la formulación de dietas de ponedoras basadas en aminoácidos en lugar de proteína cruda. La importancia de alcanzar los niveles máximos de aminoácidos en la dieta en el tamaño temprano de los huevos y la producción de huevos está bien establecida y es, sin lugar a duda, uno de los factores más críticos relacionados con el rendimiento de las ponedoras tempranas. La tendencia de algunos productores de ponedoras a utilizar dietas de baja densidad de aminoácidos en la fase de puesta y en el

tipo pre-pico es un factor importante en el fracaso de muchas parvadas para cumplir con las metas de producción de madurez, tamaño temprano del huevo y producción máxima.

Esto se ilustró en un estudio reportado por Keshavarz y Nakajima (1995) en el que el peso temprano del huevo y la producción de huevos aumentaron significativamente en ponedoras Babcock B-300 de 18 a 34 semanas de edad al aumentar el nivel de proteína de la dieta del 17 al 21%. En un experimento posterior, Keshavarz (1995) volvió a mejorar el tamaño temprano de los huevos aumentando los niveles de proteínas en la dieta y también tuvo éxito en aumentar el tamaño de los huevos aumentando el nivel de metionina en la dieta de 0,34 a 0,38%. El efecto de la metionina en el aumento del tamaño temprano de los huevos fue consistente en tres niveles de proteína (17, 19 y 21 %). Utilizando ponedoras Hyline W-36 de 20 a 36 semanas de edad, Brake y Peebles (1992) también mostraron una clara mejora en la producción de huevos, el peso de los huevos y la conversión alimenticia con el aumento de los niveles de proteína cruda y aminoácidos. En este estudio, el nivel de aminoácidos azufrados totales en la dieta se mantuvo en el 85% del nivel de lisina en cada tratamiento. Otros investigadores también han demostrado que los niveles máximos de proteínas y aminoácidos en la dieta influirán en el tamaño temprano de los huevos. El aumento de los niveles de metionina en la dieta en relación con la lisina aumentará el tamaño temprano de los huevos en las dietas adecuadas para aminoácidos y es una herramienta comúnmente utilizada para mejorar el tamaño temprano de los huevos en las parvadas de huevos comerciales. El potencial en una serie de experimentos realizados con la estirpe Hyline W-36 de 24 a 67 semanas de edad y utilizando cuatro niveles de proteína cruda en cada una de las tres fases con cada dieta formulada al mismo nivel mínimo de lisina, azufre total, aminoácido azufre, treonina y triptófano. En el tratamiento A (el nivel más alto de proteína) solo se utilizó metionina sintética suplementaria, en el tratamiento B se utilizaron metionina y lisina sintéticas, en el tratamiento C se utilizaron metionina sintética, lisina y treonina, y en el tratamiento D (nivel más bajo de proteína) se utilizaron metionina, lisina, treonina y triptófano sintéticos para alcanzar los niveles objetivo de aminoácidos en la dieta. Los datos de estos experimentos se presentan en la Tabla 3 y muestran que, cuando se utilizan metionina y lisina sintéticas, el nivel de proteína bruta en la dieta puede reducirse en un 1% sin afectar negativamente a la producción de huevos y que se puede lograr una reducción adicional del 1% en la proteína bruta de la dieta con el uso de treonina sintética con un impacto mínimo en el rendimiento. El régimen de proteína cruda más bajo utilizado en este experimento (tratamiento D) utilizando los cuatro aminoácidos sintéticos no logró mantener un rendimiento adecuado. El peso y la producción de huevos se redujeron en el tratamiento C, lo que indica que uno de los otros aminoácidos esenciales puede haberse vuelto deficiente a medida que se redujo la proteína cruda de la dieta.

Cuando se utilizan suplementos dietéticos de metionina, lisina y treonina, el siguiente aminoácido más limitante en las dietas de ponedoras es probablemente la isoleucina y los ensayos de campo han demostrado que, a medida que la isoleucina se vuelve limitante, el peso del huevo se reduce antes de que la producción de huevos se vea afectada. En este estudio, se utilizaron 60.000 aves Lohmann LSL Lite desde la colocación hasta las 60 semanas de edad y se pusieron a disposición metionina, lisina y treonina sintéticas en todas las dietas. Se utilizaron tres proporciones diferentes de isoleucina (72, 69 y 66) y todos los demás aminoácidos mínimos dietéticos fueron los mismos en cada tratamiento. A medida que la proporción de isoleucina se redujo de 72 a 66, el nivel de proteína cruda de la dieta se redujo en un 0,5-1,0% durante el pico y hasta en un 1,5% a las 43 semanas de edad. La producción de huevos y los huevos de gallina no se vieron afectados por el nivel de isoleucina; sin embargo, el peso del huevo y el porcentaje de tamaño y superior se redujeron a medida que se redujo la proporción de isoleucina (Tabla 4). Este estudio demuestra claramente que es posible reducir significativamente el nivel de proteína bruta y el costo de producción cuando se formula con metionina, lisina y treonina sintéticas y se manipulan los niveles de isoleucina en la dieta. Debido a que el logro de un buen peso temprano de los huevos es económicamente importante, se sugiere que se utilice una alta proporción de isoleucina al principio de la producción y que pueda reducirse a medida que las aves envejecen y se alcanzan los objetivos de peso de los huevos. La mayoría de las investigaciones publicadas sobre el requerimiento de aminoácidos de las

ponedoras se han realizado entre las 20 y las 40 semanas de edad. Por lo tanto, hay muy poca información publicada sobre el requerimiento de aminoácidos de las ponedoras después del pico de producción y la producción máxima de masa de huevos. Todas las empresas de reproductoras primarias recomiendan programas de alimentación por fases en los que la ingesta de aminoácidos se reduce gradualmente con la disminución de la producción de masa de huevos. Si se implementa con cuidado, con reducciones graduales de la densidad de aminoácidos, la alimentación en fase de la ingesta de aminoácidos reducirá el costo de alimentación, mantendrá un peso corporal óptimo y controlará el peso del huevo sin dañar la persistencia de la producción.

Aunque muchos programas de nutrición de ponedoras continúan siendo implementados utilizando niveles objetivo para solo proteína cruda, aminoácidos de azufre total (TSAA) y lisina total, existe una tendencia gradual hacia el uso de aminoácidos digeribles y un perfil ideal de aminoácidos, cuyo uso puede mejorar la precisión de la formulación y disminuir el costo de producción. En la Tabla 6 se presentan varios perfiles de aminoácidos ideales publicados. El más reciente de estos estudios fue reportado por Bregendahl y cols (2008) utilizando capas de Hyline W-36 de 28 a 34 semanas de edad. Con la excepción de una proporción considerablemente mayor para los aminoácidos azufrados totales, el perfil de aminoácidos recomendado por Bregendahl y cols (2008) es bastante similar al propuesto por Zhang y Coon (1994). El valor más alto de TSAA propuesto por Bregendahl y cols (2008), es una función del huevo pequeño utilizado en sus estudios. Los productores de ponedoras han aprendido desde hace mucho tiempo que el perfil de tamaño de huevo de una parvada se puede manipular variando la ingesta de TSAA entre cepas y a diferentes edades. Como se discutió anteriormente con la isoleucina, la proporción de ciertos aminoácidos se puede variar a diferentes edades para cumplir con los objetivos de producción. Por ejemplo, se utiliza una proporción más baja de TSAA, isoleucina y treonina para las parvadas de huevos duros (huevos pequeños) en comparación con la proporción utilizada para las parvadas de huevos rotos (huevos grandes). El objetivo de la mayoría de los productores de huevos es alcanzar el tamaño y la masa de huevos objetivo lo antes posible. Sin embargo, debido a que el tamaño excesivo de los huevos se asocia con una mala calidad y rendimiento de la cáscara, los productores de huevos también trabajan arduamente para evitar que el tamaño de los huevos se vuelva excesivo a medida que las aves envejecen. Podemos lograr esto sin perjudicar la producción al reducir las proporciones de TSAA, treonina e isoleucina en relación con la lisina junto con niveles reducidos de ácido linoleico a medida que las aves envejecen. Existe una escuela de pensamiento que dice que la proporción ideal no debe cambiarse a medida que las aves envejecen y que debemos modificar el perfil de tamaño del huevo simplemente reduciendo el nivel de proteína equilibrada en su conjunto. Sin embargo, esta técnica tiende a reducir la producción y el peso del huevo y que la modificación del perfil de aminoácidos es más efectiva.

Safaa y cols (2008) han reportado que el tamaño de los huevos se educó sin impacto adverso en la producción al reducir los niveles de TSAA y ácido linoleico en las ponedoras marrones de Hyline y Lohmann al final del primer ciclo. Además de utilizar diferentes perfiles de proporción de aminoácidos entre y dentro de las cepas para optimizar el tamaño y la masa de los huevos según el mercado, también existen diferencias considerables en los requisitos de aminoácidos de las ponedoras de huevo blanco y marrón. Mientras que la producción de huevos en ponedoras de huevos blancos se maximiza a 600 mg/día de lisina digestible, la producción en ponedoras de huevos marrones no se maximizó al nivel más alto de lisina probado, que fue de 800 mg/día. Estos hallazgos ilustraron que el requerimiento de aminoácidos para diferentes parámetros de rendimiento varía, el peso y la masa del huevo se incrementaron hasta el nivel máximo probado de lisina de 800 mg/día, lo que indica que el nivel máximo de lisina para el peso del huevo y la masa del huevo no se alcanzó en este estudio. En un estudio diseñado para determinar la proporción ideal de los aminoácidos clave, Bregendahl y cols (2008) estimaron que, en ponedoras Hyline W-36 de 28 a 34 semanas de edad, el requerimiento de lisina digerible para la producción de huevos, el peso del huevo, la masa del huevo, la eficiencia alimenticia y el peso corporal fue de 482, 649, 538, 693 y 489 mg/día. Utilizando dietas isolalóricas, se ha demostrado que, el efecto de la grasa dietética añadida sobre el tamaño del huevo es independiente del nivel de energía de la dieta. Investigaciones posteriores

han demostrado que el ácido linoleico es el factor en los aceites vegetales necesarios para el tamaño óptimo de los huevos. La manipulación del contenido de ácido linoleico de la dieta, independientemente del nivel de energía de la dieta, es un medio eficaz para maximizar el tamaño temprano de los huevos. El tamaño de los huevos complementando una dieta basada en maíz y soya con 2, 4 y 6% de aceite de maíz añadido. Casi todo el aumento en el tamaño del huevo ocurrió con la primera adición del 2% de aceite de maíz. Las dietas no fueron isocalóricas, pero la ingesta calórica diaria fue similar entre los tratamientos.

Los datos indican que la respuesta del tamaño del huevo con la suplementación con aceite de maíz se debió al aumento de los niveles de ácido linoleico en la dieta. Keshavarz y Nakajima (1995) utilizaron dietas isocalóricas (11,79 y 12,71 MJ/kg (1277 y 1377 kcal/lb.)) y dos mezclas de grasas animales y vegetales añadidas (20,6% de ácido linoleico) (0 y 4%), mostraron un efecto significativo de la grasa añadida sobre el tamaño del huevo. El aumento de la energía dietética sin grasa añadida y con grasa añadida no tuvo ningún efecto sobre el tamaño del huevo (Tabla 1). Esto muestra claramente que el efecto de la grasa añadida en el aumento del peso del huevo es independiente del nivel de energía de la dieta. Si el nivel de energía de la dieta durante el pico fuera un factor limitante para el tamaño temprano del huevo, aumentar el nivel de energía de 11,79 a 12,71 MJ/kg ciertamente habría aumentado el tamaño del huevo. El uso de enzimas polisacáridos no amiláceos (NSP) en las dietas de ponedoras en todo el mundo es ahora una práctica común. Los productores de ponedoras están utilizando estos productos porque mejoran la digestibilidad de los nutrientes de la dieta, mejoran el rendimiento, disminuyen la variabilidad, disminuyen la excreción de nutrientes y disminuyen el costo del alimento. Los primeros ensayos de campo en dietas a base de maíz y soya realizados en 2001 y 2002 mostraron enzimas carbohidrasas mantuvieron niveles de producción equivalentes a los controles, lo que indica que ambos productos liberaron con éxito energía de la harina de maíz y soja. Sin embargo, en ambos ensayos, el peso de los huevos se redujo en las dietas suplementadas con enzimas, lo que resultó en una reducción de la producción de huevos grandes en las ponedoras más jóvenes. La reducción del tamaño del huevo se debió a la reducción de los niveles de ácido linoleico en la dieta como consecuencia de la reducción de la grasa en la dieta que entra en las dietas que contienen la enzima NSP. Después de nuestros ensayos iniciales, comenzamos a usar un producto enzimático NSP con nuestras razas de huevos grandes, pero antes de comenzar a usar una enzima NSP en dietas formuladas para razas de huevos pequeñas, realizamos un ensayo en el que fijamos el nivel de ácido linoleico de la dieta enzimática al mismo nivel que el de la dieta de control. Los resultados de este ensayo, realizado con ponedoras Hyline W-36 desde el alojamiento hasta las 46 semanas de edad, se presentan en la Tabla 9 y muestran claramente que la imposición de un nivel mínimo de ácido linoleico en la dieta para que coincida con el nivel de ácido linoleico de una dieta sin enzimas NSP devolverá el peso del huevo al alcanzado en el tratamiento de control. Para maximizar el tamaño temprano de los huevos en las razas de huevos más pequeñas, las dietas de pico deben contener un mínimo de 2,00% de ácido linoleico. En las razas de huevos más grandes, un mínimo de 1,50% de ácido linoleico es suficiente. Buenas fuentes de ácido linoleico son el maíz, la mezcla de grasas animales y vegetales, los aceites vegetales, la soja extruida y el salvado de arroz con alto contenido de grasa.

Bain y cols (2016) exponen que la exportación de grandes cantidades de proteínas y lípidos a los huevos durante el período de puesta desafía el metabolismo de las gallinas y también puede causar una variedad de otras enfermedades metabólicas. En las aves, toda la síntesis de ácidos grasos se produce en el hígado, principalmente a partir de carbohidratos. La yema de huevo contiene una gran cantidad de lípidos. Por lo tanto, la actividad metabólica del hígado tiene que aumentar drásticamente a partir de la madurez sexual para formar los precursores lipoproteicos de la yema. La síntesis de ácidos grasos se combina con la glucólisis, por lo que un alto consumo dietético de carbohidratos puede aumentar notablemente el contenido de grasa del hígado, lo que resulta en esteatosis hepática. La esteatosis hepática en ponedoras tiende a ocurrir con mayor frecuencia cuando hay un desequilibrio en la relación proteína/energía y causa una caída en la producción de huevos y gallinas obesas. También se ha observado el síndrome hemorrágico del hígado graso (SLF) en gallinas tratadas con estrógenos. Esta enfermedad, que no debe confundirse con la esteatosis hepática, es casi invariablemente mortal, pero también puede afectar a la producción de

huevos. Se ha demostrado que el suministro de 25 (OH) D3 en la dieta, la restricción alimenticia con sustitución de carbohidratos por grasas en la dieta, la suplementación con colina, inositol, vitamina B12, ácido fólico y vitamina E en la dieta limitan la incidencia de esteatosis hepática y FLHS en ponedoras.

Dado que la lisina se considera el aminoácido de referencia en las formulaciones dietéticas que utilizan el concepto de proteína ideal, y se asocia con la síntesis de proteínas en la masa de huevos. Cuando se prioriza la síntesis de proteínas, el uso correcto de Lys y otros aminoácidos en las dietas de las aves de corral mejora la eficiencia de la utilización de Lys. El aumento de la eficiencia de los nutrientes mediante la reducción de la excreción de nutrientes puede ayudar a reducir los costos y mejorar la eficiencia de la producción, al tiempo que se cumplen las políticas gubernamentales. Por lo tanto, la disponibilidad de nutrientes dietéticos y una definición precisa de las necesidades de nutrientes son factores clave para mejorar la eficiencia de los nutrientes. Sin embargo, los estudios sobre las necesidades de lisina de las gallinas ponedoras varían considerablemente; Por lo tanto, es difícil elegir el valor óptimo para mejorar la eficiencia en diferentes condiciones. Silva y cols (2015) reportan que un experimento tuvo como objetivo modelar las respuestas de las gallinas ponedoras a la ingesta de lisina (Lys) utilizando tres modelos matemáticos. El diseño utilizado fue completamente al azar, con ocho tratamientos, seis repeticiones con ocho gallinas por unidad experimental y tres periodos de 28 días para cada periodo, utilizando 384 gallinas Dekalb White. Se realizaron análisis estadísticos de tratamientos, repeticiones y periodo mediante el procedimiento de medidas repetidas en el tiempo. Las respuestas para EM y FCR para las diferentes ingestas de Lys se ajustaron utilizando los modelos de línea discontinua (BL), polinomio cuadrático (QP) y modelo de lectura (RM). Hubo un efecto de los niveles de Lys y el período y una interacción entre los niveles de Lys y el período. Los modelos se ajustaron para cada período experimental. El nivel biológico óptimo de ingesta de Lys se obtuvo utilizando una combinación de los modelos BL y QP, el cual se acercó a la estimación de RM de 707, 660 y 669 mg/ave por día, lo que permite cumplir con el requerimiento de aproximadamente 97% de población en los períodos de 37-40, 41-44 y 45-48 semanas de edad. Para el costo de la l-Lisina HCl y para la variación del precio del huevo, la ingesta económica óptima se estimó en 699, 658 y 667 mg de Lys/ave por día para los períodos referidos.

La calidad del huevo es un factor muy importante tanto para los consumidores como para los productores. Los factores que afectan la calidad del huevo incluyen la cepa y la edad de las gallinas; temperatura, tiempo y humedad de almacenamiento de huevos; época de puesta; y alimentación. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la edad de la gallina y el tiempo de almacenamiento del huevo en la calidad del huevo. Para este experimento se utilizaron un total de 700 huevos obtenidos de ponedoras comerciales Hyline Brown, y se separaron en dos grupos de edad de gallinas (30 vs. 60 semanas) con ocho tratamientos y cuatro tiempos de almacenamiento (día 0, 10, 20 y 30). El peso del huevo; color, grosor y densidad de la cáscara; altura de la albúmina; Unidad Haugh (HU); color de la yema; y se midió el pH y la viscosidad de la yema y la albúmina para la evaluación de la calidad del huevo. Los resultados mostraron que la edad de la gallina y el tiempo de almacenamiento de los huevos afectaron significativamente casi todos los parámetros de la calidad interna y externa del huevo. El grosor de la cáscara, la altura de la albúmina, el HU, el color de la yema, el pH de la yema y la albúmina y la viscosidad de la yema disminuyeron significativamente con el aumento de la edad de la gallina. El color de la cáscara del huevo fue significativamente más claro en los huevos de gallinas de 60 semanas que en los de gallinas de 30 semanas de edad. El peso del huevo; peso, grosor y densidad de la cáscara; altura de la albúmina, HU; y la viscosidad de la albúmina disminuyó significativamente, pero el color de la yema y el pH de la yema y la albúmina aumentaron con el aumento del tiempo de almacenamiento del huevo. Los efectos de interacción entre el tiempo de almacenamiento y la edad de la gallina fueron significativos en el grosor de la cáscara, la altura de la albúmina, el color de la yema y el pH y la viscosidad de la yema y la albúmina. Los huevos obtenidos de gallinas de 60 semanas de edad mostraron valores significativamente más bajos de grosor de cáscara, altura de albúmina y HU, que se consideran mediciones típicas de la calidad del huevo, que los valores de huevos de gallinas de 30 semanas de edad. Por lo tanto, el aumento de la edad de las gallinas y el tiempo de almacenamiento de los huevos provocó el deterioro de la calidad de los

huevos. En conclusión, este estudio demostró que la edad de las gallinas es el principal factor que afecta la calidad de los huevos frescos, mientras que el tiempo de almacenamiento es el factor determinante que afecta la calidad de los huevos almacenados (Lee y cols 2016).

Roland Sr (1989) reporto que se llevaron a cabo dos experimentos para determinar si es fisiológicamente posible que la gallina deposite más cáscara en el huevo de la que se deposita actualmente y, de ser así, cuál es la capacidad máxima de la gallina para cambiar la deposición de la cáscara a medida que el tamaño del huevo aumenta o disminuye drásticamente en condiciones naturales. En el Experimento 1, se utilizaron los primeros 10 huevos puestos por cada una de las 560 pollitas. En el Experimento 2, se recolectaron huevos durante 18 días de 560 gallinas de aproximadamente 14 meses de puesta. El peso del huevo, el peso de la cáscara y la gravedad específica se determinaron en todos los huevos en ambos experimentos. Se seleccionaron huevos de gallinas que ponían ocasionalmente un huevo anormalmente grande (generalmente de doble yema) o un huevo anormalmente pequeño junto con un huevo de tamaño normal puesto por la misma gallina individual en el día contiguo y se hicieron varias comparaciones. Los resultados indican que cuando se produjo una disminución drástica en el tamaño del huevo en gallinas jóvenes o viejas, el peso de la cáscara también disminuyó en aproximadamente la misma proporción, lo que resultó en un cambio significativo en la calidad de la cáscara (gravedad específica). Cuando se produjo un aumento drástico en el tamaño de los huevos en gallinas jóvenes y viejas, la deposición de cáscara aumentó, pero no lo suficiente como para evitar una disminución en la calidad de la cáscara. Estos resultados indican que las gallinas pueden aumentar significativamente la deposición de cáscara con cambios drásticos repentinos en el tamaño del huevo. El aumento fue de aproximadamente el 7,5%. Esto sugiere que es posible que las gallinas depositen más cáscara en el huevo de la que se deposita actualmente si se aplica el estímulo adecuado.

Se inyectaron por vía intravenosa dos tipos de colorante liposoluble, negro y rojo de Sudán, en días alternos en ponedoras de 5 a 23 meses de edad para estudiar el patrón de crecimiento del folículo ovárico en relación con el envejecimiento (Zakaira y cols 1983). Los resultados indicaron: 1) la duración del período de crecimiento rápido mostró una tendencia a acortarse durante 5 a 11 meses, luego a alargarse de 15 a 23 meses de edad; 2) hubo un aumento continuo del volumen folicular en la ovulación con el avance de la edad; 3) la tasa de crecimiento (grado de curvatura de la línea de crecimiento calculado en cada folículo) fue baja a los 5 meses, aumentó de 8 a 11 meses y se mantuvo constante a partir de entonces; 4) Durante el primer año de edad, el número de folículos en crecimiento en el ovario disminuyó gradualmente, mientras que la cantidad total de depósito diario de yema aumentó. Durante el segundo año, tanto el número de folículos en crecimiento como la deposición total de la yema se mantuvieron constantes.

En este estudio Gu y cols (2021) evaluaron y compraron la integridad intestinal, la actividad de las enzimas digestivas, la utilización de nutrientes y la calidad del huevo de gallinas ponedoras a diferentes edades. Un total de 192 gallinas ponedoras Hy-line Brown de 195 días (grupo D195), 340 días (grupo D340) y 525 días (grupo D525) fueron distribuidas en uno de 3 grupos de acuerdo con sus edades. Cada grupo tuvo 8 réplicas de 8 aves cada uno, y todas las aves fueron alimentadas con una dieta basal de harina de maíz y soja para un experimento de 2 semanas. En comparación con el grupo D195, la altura de las vellosidades intestinales y la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas, así como el contenido sérico de D-lactato aumentaron en el grupo D525 ($P < 0,05$). Las actividades de la sacarasa y la maltasa en la mucosa yeyunal, la actividad de la amilasa en el páncreas y la actividad de la tripsina en el quimo yeyunal de las gallinas de 525 días de edad fueron menores que las de sus contrapartes de 195 días de edad ($P < 0.05$). Además, hubo una disminución de las actividades de tripsina y lipasa en el quimo ileal de las gallinas del grupo D525 en comparación con el grupo D195 o D340 ($P < 0.05$). La retención aparente de materia seca y proteína cruda de las aves en el grupo D340 y D525 disminuyó en comparación con el grupo D195 ($P < 0.05$). Además, las aves del grupo D525 mostraron un menor nivel de retención de extracto de éter y un mayor contenido de varios aminoácidos excretados que las del grupo D195 ($P < 0,05$). En comparación con el grupo D195, los huevos cosechados del grupo D525 exhibieron menor altura de albúmina, resistencia y grosor de la cáscara del huevo y un mayor peso del huevo ($P < 0.05$). En conclusión,

se observó un aumento de la permeabilidad intestinal (mayor contenido sérico de D-lactato), una función digestiva comprometida (menor actividad enzimática digestiva y aparente retención de nutrientes, y mayores concentraciones de aminoácidos excretados) y una mala calidad del huevo (menor altura de la albúmina, fuerza y grosor de la cáscara del huevo) con el aumento de la edad en las gallinas ponedoras.

Generalmente, las gallinas ponedoras de más de 70 semanas tienen una tasa de puesta más baja y una peor calidad de huevos, lo que resulta en una gran pérdida económica (Molnar y cols 2017. Por lo tanto, es imperativo descifrar el mecanismo intrínseco de deterioro del rendimiento de las gallinas ponedoras y establecer una estrategia nutricional adecuada para promover el desarrollo de la industria de las gallinas ponedoras. Es importante destacar que la capacidad antioxidante atenuada y el sistema inmunológico débil se atribuyen al bajo rendimiento productivo de las gallinas ponedoras viejas. En un sistema de cría intensiva, una variedad de factores de tensión, entre otros, una mayor densidad de cría, una ventilación deficiente y un estrés térmico se suman a un mayor estrés oxidativo en las gallinas ponedoras. Además, estas tensiones reducen aún más la eficiencia alimentaria, causando inmunosupresión y disfunción de la microbiota intestinal. Debido a la disminución de la capacidad antioxidante e inmunológica, las gallinas envejecidas carecen de la capacidad de adaptarse a los desafíos externos, por lo que no alcanzan su capacidad potencial de producción. Es posible que los estándares de nutrientes dietéticos predominantes utilizados en la industria no satisfagan los requisitos nutricionales de las gallinas ponedoras envejecidas sometidas a una variedad de estrés. Por lo tanto, se están realizando muchos esfuerzos para mejorar el rendimiento productivo de las gallinas ponedoras envejecidas mediante intervenciones nutricionales, que incluyen, entre otras, la suplementación de la dieta con enzimas exógenas, prebióticos y probióticos, minerales (calcio y zinc, etc.) y vitaminas como la vitamina D (VD) y la biotina. Debido a sus efectos beneficiosos sobre la reproducción, la actividad antioxidante y otros mecanismos fisiológicos las vitaminas han atraído justificadamente mucho interés en la industria de las gallinas ponedoras.

Gan y cols (2020) reportan que, el objetivo de este estudio fue investigar los efectos de un mayor nivel de suplementación con vitaminas sobre el rendimiento, la inmunidad y la microbiota intestinal de gallinas ponedoras viejas. Se eligieron al azar doce aves de 312 ponedoras sanas de Hy-Line Brown de 65 semanas de edad para el muestreo después de un período de aclimatación de 7 semanas. Las 300 gallinas restantes se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 tratamientos dietéticos para un ensayo de alimentación de 13 semanas: dieta basal (CON), dieta basal con un nivel de suplementación de 2 veces de vitaminas liposolubles (VI), un nivel de suplementación de 2 veces de vitaminas solubles en agua (VB) o un nivel de suplementación de 2 veces de vitaminas solubles en lípidos e hidrosolubles (VB), respectivamente. En comparación con las gallinas ponedoras de 72 semanas de edad, las gallinas ponedoras de 85 semanas mostraron una disminución de la calidad del huevo, lo que implica una menor fuerza de la cáscara del huevo y el color de la yema ($P < 0.05$). Sin embargo, después de 13 semanas de ensayo de alimentación, las aves del grupo WV tuvieron un mayor color amarillento de la yema, y el grupo LV tuvo una mayor tasa de puesta ($P < 0.05$) en comparación con CON. Mientras tanto, los grupos WV y/o BV mostraron una mejoría en los niveles de GSH/GSSG en el hígado y un aumento de las concentraciones de inmunoglobulina A secretora en el yeyuno en comparación con el CON ($P < 0,05$). Además, los niveles más altos de suplementos vitamínicos en la dieta alteraron significativamente la composición de la microbiota intestinal, como lo demuestra el aumento de la abundancia de Lactobacillus ileal, mientras que la reducción de la riqueza de Romboutsia, Turicibacter y Faecalibacterium ($P < 0,05$) en el grupo WV y el aumento de Megasphaera y Phascolarctobacterium cecales ($P < 0,05$) en el grupo LV en comparación con el grupo CON. En conclusión, unos niveles más altos de suplementación vitamínica en la dieta podrían mejorar el rendimiento de las gallinas ponedoras y la calidad de los huevos de las gallinas envejecidas, lo que se correlacionó estrechamente con el aumento de la abundancia de microbiota beneficiosa en el intestino.

Abe y cols (1982) describen que, la tasa de huevos agrietados o de cáscara blanda aumenta notablemente en las gallinas ponedoras viejas. Investigamos el efecto de la edad sobre el metabolismo del colecalciferol en diferentes grupos de edad de gallinas ponedoras. La tasa de producción de huevos en gallinas de más

de 500 días de edad se mantuvo dentro de un rango de alrededor del 70% de la de las gallinas jóvenes (230-320 días de edad), mientras que la tasa de huevos agrietados o de cáscara blanda aumentó notablemente con la edad. Cuando los homogeneizados renales de los diferentes grupos de edad se incubaron con [3H]-25-hidroxivitamina D-3, se encontró que la actividad renal de la 25-hidroxivitamina D-3-1α-hidroxilasa disminuía marcadamente con la edad. Cuando a las aves se les administró por vía intravenosa [3H]-25-hidroxivitamina D-3 o [3H]-1α,25-dihidroxivitamina D-3, la acumulación de [3H]-1α,25-dihidroxivitamina D-3 en plasma y tejidos diana también disminuyó con la edad. La muda forzada realizada en gallinas viejas restauró la calidad de la cáscara del huevo. El tratamiento también restauró, aunque parcialmente, la acumulación in vivo de [3H]-1α,25-dihidroxivitamina D-3 en los tejidos diana. Estos resultados sugieren que el aumento de la tasa de huevos agrietados o de cáscara blanda que se observa en las aves más viejas se asocia con trastornos del metabolismo de la vitamina D-3.

Las gallinas que formaron cáscaras no calcificadas sintetizaron menos 1,25-hidroxicolecalciferol (1,25(OH)2D3) y menos calbindina duodenal y de la glándula de la cáscara del huevo (ESG) que las gallinas ponedoras normales. Las gallinas que formaban cáscaras delgadas tenían intestino inferior y calbindina ESG y su ARNm. La reducción del transporte de calcio (Ca2+) ESG por el inhibidor de la anhidrasa carbónica acetazolamida, pero no por la restricción de Ca2+ en la dieta, redujo la calbindina ESG y su ARNm. Dos subpoblaciones de gallinas caracterizadas por el grosor de la cáscara (ST) mantuvieron esta característica durante todo el período de producción. Las diferencias entre las dos subpoblaciones aumentaron con la edad. En gallinas ponedoras viejas, las dos subpoblaciones respondieron de manera diferente a la restricción de Ca2+ en la dieta y a la 1,25(OH)2D3 exógena. Aquellos que formaron una cáscara delgada respondieron a 1,25(OH)2D3 con una mejora significativa en el ST. Los resultados sugieren que: (a) el mecanismo responsable del transporte de Ca2+ a la cáscara del huevo consiste en una absorción de Ca2+ dependiente de la vitamina D y una transferencia de Ca2+ dependiente de múltiples factores a la cáscara; b) lo más probable es que ambas etapas estén mediadas por la calbindina; sin embargo, la inducción de la expresión génica de la calbindina en la ESG es predominantemente dependiente del calcio; y c) el defecto aparente en el metabolismo de la vitamina D o su expresión en gallinas viejas es típico, o incluso exclusivo, de las gallinas formadoras de cáscara delgada (Bar y cols 1999).

Tsang y cols (1988) reportan que, diecisiete gallinas ponedoras White Leghorn de 32 semanas de edad fueron inducidas a tener deficiencia de calciferol o de calcio (huevos de cáscara delgada o blanda) mediante la retirada de suplementos de colecalciferol (dieta de 27,5 microgramos/kg) o calcio (dieta de 31 g/kg) de la dieta de control. A continuación, se monitorizaron el destino metabólico y la tasa de aclaramiento metabólico (MCR) del 3H-estradiol-17 beta inyectado por vía intravenosa durante 40 min. Tanto en el grupo de calciferol como en el de deficiencia de calcio se vio particularmente afectada una importante vía de sulfato de estrógeno, lo que dio lugar a una disminución de la conversión de estradiol-17 beta-3-sulfato en estradiol-17 alfa-3-sulfato, con una reducción concomitante de la TMC del estradiol-17 beta del plasma. El defecto metabólico se corrigió mediante la alimentación con la dieta control. Debido a que el defecto metabólico observado en la deficiencia de calciferol ocurrió en la deficiencia de Ca en una forma más severa, concluimos que la causa más inmediata fue la deficiencia de calcio en lugar de la deficiencia de calciferol. Hasta donde sabemos, esta es la primera observación de un efecto deficiente de calcio en el metabolismo del sulfato de estrógeno in vivo.

Se presenta evidencia de que en la deficiencia de vitamina D hay aberraciones del metabolismo de los estrógenos en la gallina ponedora. Se encontró que cinco gallinas White Leghorn, de 35 semanas de edad, todas ponedoras de huevos de cáscara blanda como resultado de la eliminación completa de la vitamina D3 (D3) suplementaria de la dieta, tenían una proporción molar 3 veces mayor de estradiol-17 beta-3-sulfato (E2 beta-3S) a estradiol-17 beta (E2 beta) en comparación con cinco gallinas ponedoras de control alimentadas con una dieta suplementada con D3. Un estudio de trazadores de curso temporal con [3H]E2 beta administrado por vía iv reveló una acumulación anormalmente alta de [3H]E2 beta-3S en plasma y, concomitantemente, una formación marcadamente reducida de [3H]estradiol-17 alfa-3-sulfato [(3H]E2 alfa-3S) en comparación con las gallinas de control. Esta observación sugiere un defecto en la conversión

de [3H]E2 beta-3S a [3H]E1S, que previamente se ha demostrado que es una vía importante para el metabolismo de E2 beta (E2 beta, E2, beta-3S en equilibrio, E1S, E2 alfa-3S). Como resultado, la MCR de [3H]E2 beta del plasma de las gallinas deficientes en D3 fue aproximadamente un 15% inferior a lo normal. La tasa de producción calculada de E2 beta se redujo aún más, en un 60%. Sin embargo, la reducción de la tasa de producción podría haber estado relacionada con el alargamiento del ciclo ovulatorio debido a la deficiencia de vitamina D. Se concluye que la deficiencia de vitamina D afecta la biosíntesis y el catabolismo de E2 beta en la gallina ponedora (Tsang y Grunder 1984).

Zang y cols (2011) describen que un experimento se llevó a cabo para evaluar los efectos de diferentes combinaciones de vitaminas dietéticas sobre la calidad del huevo y las concentraciones de vitaminas en los huevos de gallinas ponedoras comerciales. Un total de 1.800 gallinas Lohman de caparazón rosado de 25 semanas de edad fueron asignadas aleatoriamente a cuatro tratamientos vitamínicos dietéticos de la siguiente manera: nivel de NRC (1994), nivel de NRC (1994) con Hy.D® (25-hidroxi-colecalciferol), nivel local (nivel promedio actual de la industria en China) y nivel de OVN® (nivel óptimo de nutrición vitamínica), con 10 repeticiones por tratamiento y 45 ponedoras por reproducción. Las gallinas fueron alojadas en jaulas de puesta comerciales con tres aves por jaula y se les dio acceso ad libitum al alimento. Los resultados mostraron que las gallinas que recibieron los niveles de vitamina fortificada en el tratamiento con OVN® tuvieron un número significativamente ($p<0.05$) menor de huevos agrietados (.47%) y sucios (.27%), y un aumento en la deposición de huevos de vitamina B12, ácido fólico, vitamina A, vitamina D, 25-OH-D3, vitamina E, vitamina B1, biotina y pantotenato ($p<0.05$). Los tratamientos no tuvieron un efecto significativo sobre el índice de forma del huevo, la gravedad específica del huevo, las unidades de Haugh y el grosor de la cáscara del huevo. Las gallinas alimentadas con la combinación NRC-Hy.D® también experimentaron una disminución significativa de los huevos agrietados y sucios (0,70% y 0,44%, respectivamente) y un aumento de la deposición de 25-OH-D3 en comparación con el tratamiento NRC. Los resultados del presente estudio sugieren que el tratamiento local fue capaz de mejorar los parámetros de calidad del huevo de las gallinas ponedoras, pero resultó en más huevos agrietados y sucios. El OVN® redujo el número de huevos rotos y sucios, y mejoró la deposición de varias vitaminas en los huevos. Con la adición de Hy.D®, también se mejoró la resistencia de la cáscara de huevo y la deposición de 25-OH-D3 en los huevos, y disminuyeron las tasas de huevos agrietados y sucios.

Mantener un excelente estado inmunológico, rendimiento de producción y calidad del huevo en gallinas ponedoras viejas, es decir, hasta las 100 semanas de edad, es un interés continuo en la producción avícola. En general, la tasa de postura y la calidad de los huevos comienzan a disminuir en las ponedoras después de las 60 semanas de edad, con un mayor número de huevos anormales producidos y mayores tasas de rotura. Estos descensos causan pérdidas económicas sustanciales. Por lo tanto, es importante desarrollar soluciones nutricionales para mitigar la disminución de la tasa de puesta en las ponedoras viejas. Algunos estudios previos han sugerido que la disminución de la tasa de puesta en las ponedoras viejas está relacionada con el estrés oxidativo y la disminución de la inmunidad. El ácido ascórbico (AA) es un potente antioxidante que generalmente se complementa en los alimentos para aliviar el estrés oxidativo y mejorar la inmunidad. Después de una cascada de oxidación de dos rondas y la pérdida de dos electrones, se forma la forma oxidada de AA, denominada ácido deshidroascórbico (DHA). Las aves de corral tienen la capacidad de sintetizar AA en el riñón a través del ciclo de glucuronatexilosa-xilulosa en presencia de L-gulonolactona oxidasa ([EC 1.1.3.8], GLO). Todos los AA son transportados a las células por el transportador de vitamina C dependiente de sodio 1 (SVCT1) y el transportador de vitamina C dependiente de sodio 2 (SVCT2), mientras que el DHA entra y sale de las células a través de transportadores de glucosa facilitados. Los requisitos de AA de las gallinas ponedoras se cumplen de dos maneras: síntesis in vivo (endógena) y absorción del alimento (exógena). La suplementación dietética con AA mejoró el rendimiento productivo y el estado inmunológico de gallinas ponedoras viejas (72 semanas de edad) sometidas a condiciones de estrés térmico severo. Sin embargo, algunos resultados han demostrado que la suplementación con AA no tuvo ningún efecto sobre el rendimiento productivo de las gallinas ponedoras (31 semanas de edad) bajo estrés oxidativo y de los pollos de engorde. Estos resultados inconsistentes con respecto a la

suplementación con AA llevaron a un examen de los cambios en la distribución y el transporte de AA en diferentes tejidos y la actividad de la enzima GLO en aves de diferentes edades. En la producción avícola, las ponedoras viejas de más de 75 semanas de edad que están sometidas a una variedad de factores de tensión generalmente presentan disminuciones en la inmunidad y la tasa de puesta. Pocos estudios se han centrado en los efectos de la suplementación con AA sobre la función inmunitaria, el estado antioxidante y el rendimiento de la producción en ponedoras viejas. Esta información es esencial para comprender el metabolismo de AA y desarrollar estrategias para mantener un rendimiento óptimo en gallinas ponedoras viejas. Planteamos la hipótesis de que las gallinas ponedoras viejas tienen una capacidad más baja que las gallinas jóvenes para sintetizar y absorber AA y que la suplementación dietética con AA puede mejorar el contenido de AA en los tejidos, el estado antioxidante y el rendimiento de la producción.

Gan y cols (2018) describen que, un número igual (24 gallinas) de ponedoras de 35 semanas de edad (jóvenes) y de 75 semanas de edad (viejas) fueron alimentadas con la misma dieta sin suplementación con AA durante 4 semanas. En el Exp. 2, 360 gallinas ponedoras sanas de 78 semanas de edad fueron asignadas aleatoriamente a 4 tratamientos (dieta basal suplementada con 0, 0,25, 0,5 o 1 g de dieta AA/kg) en un ensayo de alimentación de 8 semanas. Las gallinas viejas tendieron a tener una menor actividad de la L-gulonolactona oxidasa (GLO) sintasa en el riñón y el hígado que la de las gallinas jóvenes ($P = 0,07$ y $P = 0,05$, respectivamente). En comparación con las gallinas jóvenes, las gallinas viejas tuvieron una menor capacidad antioxidante hepática, lo que permitió una menor expresión génica de tiorredoxina (TXN), tiorredoxina reductasa (TXNR) y citocromo b5 reductasa (CYB5R) ($P < 0,05$), mientras que aumentaron los niveles de expresión del transportador de vitamina C dependiente de sodio (SVCT) 1 en el íleon y el riñón y aumentaron las concentraciones de AA esplénico y hepático ($P < 0,05$). La suplementación dietética con AA disminuyó significativamente la actividad de la enzima GLO, pero aumentó la concentración de AA esplénico y los niveles de IgG de albúmina sérica antibovina ($P < 0,05$) y tendió a aumentar el número de linfocitos T CD4+ ($P = 0,06$) en suero. La suplementación con 0,25 g de AA/kg de dieta aumentó significativamente la capacidad antioxidante total hepática (T-AOC, $P < 0,05$) en relación con el grupo control. Las gallinas ponedoras podían sintetizar AA tanto en el riñón como en el hígado, aunque las actividades de la enzima GLO eran 100 veces mayores en los riñones que en los hígados. Las gallinas ponedoras viejas tuvieron mayor capacidad de absorción y reabsorción y mayor retención de AA en algunos tejidos que las gallinas jóvenes. La suplementación dietética de AA puede mejorar la salud de las ponedoras viejas al mejorar la inmunidad y la capacidad antioxidante.

4) Oportunidades:

La industria avícola se ha beneficiado enormemente de los avances en genética, nutrición, alojamiento y estrategias de manejo para las ponedoras modernas de larga vida. Los genetistas han hecho de los rasgos de bienestar y salud componentes importantes de los programas de selección y, en general, por lo que las ponedoras modernas y de alta producción son más saludables que hace unas décadas atrás. Sin embargo, el aumento de la productividad significa que las ponedoras comerciales están más cerca de sus límites fisiológicos, y la nutrición, el medio ambiente y el manejo se han vuelto cada vez más críticos para el mantenimiento de la productividad de esta ponedora. Las restricciones gubernamentales a la inclusión de los antibióticos promotores de rendimiento en el alimento de las estirpes avícolas ha resultado en desafíos recurrentes para mantener la salud intestinal y, en consecuencia, el rendimiento de las aves. Sin embargo, a medida que la industria se adapta a la producción sin el uso de antibióticos promotores del rendimiento, se pueden obtener beneficios a largo plazo debido a una reducción de la resistencia a los antimicrobianos. La selección intensiva para el rendimiento y la eficiencia de la carne se asocia con un mayor riesgo de miopatías musculares que afectan la salud de las aves y la calidad de la carne. A medida que la selección genética aumentaba los rasgos de producción de las ponedoras modernas de larga vida, se ha hecho necesario el reconocer la importancia del periodo de crianza, el control del ambiente de la ponedora y todos los aspectos de nutrición y alimentación que conlleva para la obtención de huevos íntegros para el mercado de consumidores. Las gallinas ponedoras modernas son capaces de ciclos de puesta de más de 100 semanas de edad. Esto ha reducido el uso de programas de muda forzada que inducen estrés y reduce el número

total de gallinas necesarias para satisfacer la demanda de producción de huevos. El importante papel del sistema esquelético en la deposición de la cáscara del huevo exige que el desarrollo del esqueleto durante la cría administrado cuidadosamente para evitar problemas en la cáscara y el esqueleto al final del ciclo de producción. A medida que el potencial de producción de las aves de corral modernas continúa aumentando a través de la selección genética y genómica, se debe prestar aún más cuidado para mantener la salud y el bienestar de las aves. Este es un momento emocionante para participar en la nutrición de las gallinas ponedoras, dado que el potencial genético mejora con cada generación con una madurez más temprana y una mayor persistencia de la producción, todo ello con un menor peso corporal y una menor capacidad de ingesta de alimento. El costo cada vez mayor de los ingredientes de los alimentos avícolas nos ha hecho más aceptables de ingredientes y aditivos alternativos para los alimentos balanceados. Hay disponibilidad de una serie de aditivos modernos, como enzimas, pro, post y prebióticos, minerales orgánicos, aceites esenciales, extractos de hierbas, fitobióticos y una variedad de aminoácidos cristalinos. Las universidades y los proveedores continúan ayudándonos a avanzar en el conocimiento de la nutrición y nos brindan herramientas para evaluar adecuadamente los ingredientes. Nos corresponde como nutriólogos reunir todo este conocimiento y ofrecer un paquete de soluciones nutricionales que optimice mejor el costo de producción.

5) Literatura Revisada:

Abe, E., H Horikawa, T Masumura, M Sugahara, M Kubota y T Suda, 1983, Disorders of cholecalciferol metabolism in old egg-laying hens, Journal of Nutrition 112(3): 436-446.

An, S.H., D.W. Kim y B.K. An, 2016, Effects of Dietary Calcium Levels on Productive Performance, Eggshell Quality and Overall Calcium Status in Aged Laying Hens, Asian-Australas J Anim Sci. 29(10): 1477–1482.

Anderson, K.E. y A.W. Adams, 1994, Effects of Floor Versus Cage Rearing and Feeder Space on Growth, Long Bone Development, and Duration of Tonic Immobility in Single Comb White Leghorn Pullets, Poultry Science 73(7): 958-964.

Anderson, K.E., G.B. Havenstein, P.K. Jenkins, J. Osborne, 2013, Changes in commercial laying stock performance, 1958–2011: thirty-seven flocks of the North Carolina random sample and subsequent layer performance and management tests, Worlds Poultry Science Journal, 69: 489-513.

Angel, R., 2011, Calcium and Phosphorus requirements in broilers and layer hens, Aust. Poult. Sci. Symp. Pp: 32-48.

Ar, A. y H Rahn. 1985, Pores in avian eggshells: gas conductance, gas exchange and embryonic growth rate, Respir Physiol 61(1): 1-20.

Armstrong, E.A., C. Rufener, M.J. Toscano, J.E. Eastham, J.H. Guy, V. Sandilands, T. Boswell y T.V. Smulders, 2020, Keel bone fractures induce a depressive-like state in laying hens, Scientific Reports 10: 3007.

Arthur, J.A. y N. O'Sullivan, 2005, Breeding chickens to meet egg quality needs. International Hatchery Practice, 19: 7–9.

Attia, Y.A., E. Abd El-Hamid, A.A. Abedalla, M.A. Berika, M.A. Al-Harthi, O. Kucuk, K. Sahin y B.M. Abou-Shehema, 2016, Laying performance, digestibility and plasma hormones in laying hens exposed to chronic heat stress as affected by betaine, vitamin C, and/or vitamin E supplementation, SpringerPlus 5: 1619.

Attia, Y.A., A. Mohammed, M. A. Al-Harthi y H.M. Abo El-Maaty, 2020, Calcium and Cholecalciferol Levels in Late-Phase Laying Hens: Effects on Productive Traits, Egg Quality, Blood Biochemistry, and Immune Responses, Front. Vet. Sci. 7: 389.

Bahr, J.M. y A.L. Johnson, 1984, Regulation of the follicular hierarchy and ovulation, J Exp Zool 232(3): 495-500.

Bain, M.M., Y. Nys y I.C. Dunn, 2016, Increasing persistency in lay and stabilising egg quality in longer laying cycles. What are the challenges? British Poultry Science 57(3): 330–338.

Balnave, D. y J. Brake, 2005, Nutrition and management of heat-stressed pullets and laying hens, World's Poultry Science Journal 61: 399-406.

Bar, A., E. Vax y S. Striem, 1999, Relationships among age, eggshell thickness and vitamin D metabolism and its expression in the laying hen, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 123(2): 147-154.

Barboza, P.S. y I.D. Hume, 2006, Physiology of intermittent feeding: integrating responses of vertebrates to nutritional deficit and excess, Physiol. Biochem. Zool., 79: 250-264.

Bello, A., Y. Dersjant-Li y D.R. Korver, 2020, Effects of dietary calcium and available phosphorus levels and phytase supplementation on performance, bone mineral density, and serum biochemical bone markers in aged white egg-laying hens, Poultry Science 99: 5792–5801.

Bish, C.L., W. L. Beane, P.L. Ruszler y J.A. Cherry, 1984. Modified step-up protein regimens for egg-type chickens. Poultry Science 63: 2450-2457.

Bish, C.L., W.L. Beane, P.L. Ruszler y J. A. Cherry, 1985, Body weight influence on egg production. Poultry Science 64: 2259-2262.

Bishop, S.C., R.H. Fleming, H.A. McCormack, D.K. Flock y C.C. Whitehead, 2000, Inheritance of bone characteristics affecting osteoporosis in laying hens, British Poultry Science 41: 33–40.

Bolden, S.L. y L.S. Jensen, 1985, Effect of Dietary Calcium Level and Ingredient Composition on Plasma Calcium and Shell Quality in Laying Hens, Poultry Science 64: 1499-1505.

Bölükbasi, S.C., S. Çelebi y N. Utlu, 2005, The Effects of Calcium and Vitamin D in Diet on Plasma Calcium and Phosphorus, Eggshell Calcium and Phosphorus Levels of Laying Hens in Late Laying Production Period, International Journal of Poultry Science 4 (8): 600-603.

Borges, S.A., A.V. Fischer Silva, A. Majorka, D.M. Hooge y K.R. Cummings,2004, Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram), Poultry Science 83: 1551–1558.
Bornstein, S., I. Planik y Y. Lev, 1984, Body weight and/or fatness as potential determinants of the onset of egg production in broiler breeder hens, Br. Poult. Sci. 25: 323-341.
Bouvarel, I., Y. NYS, Y. y P. Lescoat, 2011, Hen nutrition for sustained egg quality, in: Nys, Y., Bain, M. & Vanimmerseel, F. (Eds) Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products, Vol 1: Egg Chemistry, Production and Consumption, Cambridge, Woodhead Publishing Ltd., pp. 261–290.
Bouvarel, I. y Y. NYS, 2013, Optimizing egg mass and quality traits in modern laying hens through nutrition. Proceedings of the 19th European Symposium on Poultry Nutrition, Potsdam, Germany.
Bowen, S.J. y K.W. Washburn, 1985, Thyroid and adrenal response to heat stress in chickens and quail differing in heat tolerance, Poultry Science 64: 149–154.
Brake, J.D. y E.D. Peebles, 1992, Laying hen performance as affected by diet and caging density, Poultry Science 71(6): 945-950.
Bregendahl, K., S.A. Roberts, B. Ker y D. Hoehler, 2008, Ideal ratios of isoleucine, methionine, methionine plus cystine, threonine, tryptophan, and valine relative to lysine for white leghorn-type laying hens of twenty-eight to thirty-four weeks of age, Poultry Science 87(4): 744-758.
Brinker, T., P. Bijma, A. Vereijken y E.D. Ellen, 2018, The genetic architecture of socially affected traits: a GWAS for direct and indirect genetic effects on survival time in laying hens showing cannibalism, Genetics Selection Evolution, 50: 38.
Brugaletta, G., J.R. Teyssier, S.J. Rochell, S. Dridi y F. Sirri, 2022, A review of heat stress in chickens. Part I: insights into physiology and gut health. Front Physiol. 13: 934381.
Bryden, W.L., X. Li, I. Ruhnke, D. Zhang y S. Shini, 2020, Nutrition, feeding and laying hen welfare, Animal Production Science 61(10): 893-914.
Buss D.J., N. Reznikov y M.D. McKee , 2023, Attaching organic fibers to mineral: The case of the avian eggshell, iScience 26(12): 108425.
Cave N.A.G., 1984, Effect of a High-Protein Diet Fed Prior to the Onset of Lay on Performance of Broiler Breeder Pullets, Poultry Science 63: 1823–1827.
Channing, C.P., F.W. Schaerf, L. D. Anderson, y A. Tsafriri, 1980, Ovarian follicular and luteal physiology, Int Rev Physiol 22: 117-201.
Cheng, T.K., A. Peguri, M.L. Hamre y C.N. Coon, 1991, Effect of rearing regimens on pullet growth and subsequent laying performance. Poultry Science, 70: 907–916.
Ciccone, N.A., P.J. Sharp, P.W. Wilson y I.C. Dunn, 2005, Changes in reproductive neuroendocrine mRNAs with decreasing ovarian function in ageing hens, Gen Comp Endocrinol 144(1): 20-27.
Classen, H.L. y T.A. Scott, 1982, Self-selection of calcium during the rearing and early laying periods of white leghorn pullets. Poultry Science, 61: 2065–2074.
Cohen, A. Bar, U. Eisner y S. Hurwitz. 1978, Calcium Absorption, Calcium-Binding Protein, and Eggshell Quality in Laying Hens Fed Hydroxylated Vitamin D Derivatives, Poultry Science 57: 1646-1651.
Cransberg P.H., G.B. Parkinson, S. Wilson y B.H. Thorp, 2001, Sequential Studies of Skeletal Calcium Reserves and Structural Bone Volume in a Commercial Layer Flock, Br. Poult. Sci. 42: 260–265.
Cufadar, Y., O. Olgun y A. Ö. Yildiz, 2011, The effect of dietary calcium concentration and particle size on performance, eggshell quality, bone mechanical properties and tibia mineral contents in moulted laying hens, Br Poult Sci. 52(6): 761-768.
Curtis, P.A., L.K. Kerth y K.E. Anderson, 2005 Impact of strain on egg quality composition during a single production cycle Poultry Science, 84: 78–78.
de Araujo, J.A. J.H. Vilar da Silva, F.G. Perazzo Costa, J.M. Batista de Sousa, P.E. Naves Givisiez y N.K. Sakomura, 2011, Effect of the levels of calcium and particle size of limestone on laying hens, R. Bras. Zootec., 40(5): 997-1005.
de Juan, A.F., R. Scappaticcio, L. Aguirre, G. Fondevila , J. García, L. Camara y G.G. Mateos, 2023, Influence of the calcium and nutrient content of the prelay diet on egg production, egg quality, and tibiae mineralization of brown egg-laying hens from 16 to 63 wk of age, Poultry Science 102: 102491.
de los Mozos, J., A.I. García-Ruiz, L.A. den Hartog y M.J. Villamide, 2017, Growth curve and diet density affect eating motivation, behavior, and body composition of broiler breeders during rearing, Poultry Science 96: 2708-2717.
Deng, W., X.F. Dong, J.M. Tong y Q. Zhang, 2012, The probiotic Bacillus licheniformis ameliorates heat stress induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens, Poultry Science 91: 575–582.
Doran, B.H., W.F. Krueger y J.W. Bradley, 1983, Effect of Step-Down and Step-Up Protein-Energy Feeding Systems on Egg-Type Pullet Growth and Laying Performance, Poultry Science 62(2): 255-262.
Driggers, J.C, y C.L. Comar, 1949, The secretion of radioactive calcium (Ca46) in the hen's egg, Poultry Sci., 28: 420-424.
Du, Y., L. Liu, Y. He, T. Dou, J. Jia y C. Ge, Endocrine and genetic factors affecting egg laying performance in chickens: a review, Br Poult Sci. 61(5): 538-549.
Ducatelle, R., E. Goossens, F. De Meyer, V. Eeckhaut, G. Antonissen, F. Haesebrouck y PF. Van Immerseel, 2018, Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. Vet Res. 49: 43.
Dunn, I.C., R.H. Fleming, H.A. McCormack, D. Morrice, D.W. Burt, R. Preisinger y C.C. Whitehead, 2007, A QTL for osteoporosis detected in an F2 population derived from White Leghorn chicken lines divergently selected for bone index, Animal Genetics, 38: 45–49.
Dunn, I.C., M. Bain, A. Edmond, P.W. Wilson, N. Joseph, S. Solomon, B. de Ketelaere, J. de Baerdemaker, M. Schmutz, R. Prreisinger y D. Waddington, 2005, Heritability and genetic correlation of measurements derived from acoustic resonance frequency analysis; a novel method of determining eggshell quality in domestic hens, British Poultry Science 46: 280–286.

Dunn, I.C., 2013, Long Life Layer; genetic and physiological limitations to extend the laying period. Proceedings of the 19th European Symposium on Poultry Nutrition, Potsdam, Germany.
Dunn, J.C., D.J. De Koning, H.A. McCormack, R.H. Fleming, P.W. Wilson, B. Andersson, M. Schmutz, C. Benavides, N. Dominguez-Gasca, E. Sanchez-Rodriguez y A.B. Rodriguez-Navarro, 2021, No evidence that selection for egg production persistency causes loss of bone quality in laying hens, Genetics Selection Evolution, 53: 11.
Elliot, M.A., 2012, New Concepta in Layer Nutrition, Aust. Poult. Sci. Symp. Pp: 217-231.
Elwinger, K., C. Fisher, H. Jeroch, B. Sauveur, H. Tiller y C.C. Whitehead, 2016, A brief history of poultry nutrition over the last hundred years, World's Poultry Science Journal 72: 701-720.
Emmans, G.C., 2007, Growth, body composition and feed intake, World Poultry Science Journal 43(3): 208-227.
Etches, R.J., 1987, Calcium Logistics in the Laying Hen, The Journal of Nutrition, 117(3): 619-628.
Etches, R.J., J.N. Petitte y C.E. Anderson-Langmuir, 1984, Interrelationships between the hypothalamus, pituitary gland, ovary, adrenal gland, and the open period for LH release in the hen (Gallus domesticus), J Exp Zool 232(3): 501-511.
Eusemann, B.K., A. Patt, L. Schrader, S. Weigend, C. Thone-Reineke, S. Petow, 2020, The role of egg production in the etiology of keel bone damage in laying hens, Frontiers in Veterinary Science, 7: 81.
Farag, M.R. y M. Alagawany, 2018, Physiological alterations of poultry to the high environmental temperature. J Therm Biol. 76: 101–106.
Fawcett, D.L., T.M. Casey-Trott, L. Jensen, L.J. Caston y T. M. Widowski, 2020, Strain differences and effects of different stocking densities during rearing on the musculoskeletal development of pullets, Poultry Science 99: 4153–4161.
Felver-Gant, J.N., L.A. Mack, R.L. Dennis, S.D. Eicher y H.W. Cheng, 2012, Genetic variations alter physiological responses following heat stress in two strains of laying hens, Poultry Science 91: 1542–1551.
Fleming, R.H., H.A. McCormack, L. McTeir y C.C. Whitehead, 2006, Relationships between genetic, environmental, and nutritional factors influencing osteoporosis in laying hens, British Poultry Science, 47: 742-755.
Fouad, A.M., W. Chen , D. Ruan , S. Wang , W.G. Xia y C.T. Zheng, 2016, Impact of Heat Stress on Meat, Egg Quality, Immunity and Fertility in Poultry and Nutritional Factors That Overcome These Effects: A Review, International Journal of Poultry Science 15 (3): 81-95.
Freitas, C.S.R., I.F.F. Tinôco, F.C. Baêta, M. Barbari, L. Conti, C.G.S. Teles Júnior, M.G.L. Cândido, C.V. Morais y F.C. Sousa, 2017, Correlation between egg quality parameters, housing thermal conditions and age of laying hens, Agronomy Research 15(3), 687–693.
Frikha, M., H.M. Safaa, M.P. Serrano, E. Jimenez-Moreno, R. Lázaro y G.G. Mateos, 2011, Influence of the main cereal in the diet and particle size of the cereal on productive performance and digestive traits of brown-egg laying pullets, Animal Feed Science and Technology, 164: 106–115.
Fuller H.L. y W.S. Dunahoo, 1962, Restricted Feeding of Pullet, Poultry Science 41: 1306–1314.
Fuller H.L., D.K. Potter y W. Kirkland, 1969, Effect of Delayed Maturity and Carcass Fat on Reproductive Performance of Broiler Breeder Pullets, Poultry Science 48: 801–809.
Gan, L., H. Fan, W. Nie y Y. Guo, 2018, Ascorbic acid synthesis and transportation capacity in old laying hens and the effects of dietary supplementation with ascorbic acid, Journal of Animal Science and Biotechnology 9(71): 1-12.
Gan, L., Y. Zhao, T. Mahmood y Y. Guo, 2020, Effects of dietary vitamins supplementation level on the production performance and intestinal microbiota of aged laying hens, Poultry Science 99: 3594–3605.
Gautron, J., M.T. Hincke y Y. Nys, 1997,) Precursor matrix proteins in the uterine fluid change with stages of eggshell formation in hens. Connective Tissue Research, 36: 195–210.
Gautron, J., L. Stapane, N. Le Roy, Y. Nys, A.B. Rodriguez-Navarro y M.T. Hincke, 2021a, Avian eggshell biomineralization: an update on its structure, mineralogy and protein tool kit, BMC Mol Cell Biol 22(1): 11.
Gautron J., S. Réhault-Godbert, T.G.H. Van de Braak e I.C. Dunn, 2021b, Review: What are the Challenges Facing the Table Egg Industry in the Next Decades and what Can Be Done to Address Them? Animal 15: 100282.
Geraert, P.A., J.C. Padilha y S. Guillaumin, 1996, Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. Br J Nutr. 75: 205–216.
Gous, R.M., 2014, Modeling as a research tool in poultry science, Poultry Science 93(1): 1-7.
Gowe R.S., J.H. Strain, R.D. Crawford, A.T. Hill, S. Slen S. B., Mountain W. F. (1965). Restricted Feeding of Growing Pullets. Poultry Science 44: 717–726.
Grizzle, J., M. Iheancho, A. Saxton y J. Broaden, 1992, Nutritional and environmental factors involved in eggshell quality of laying hens, British Poultry Science, 33: 781–794.
Gu, Y.F., Y.P. Chen, R. Jin, C. Wang, C. Wen y Y. M. Zhou, 2021, A comparison of intestinal integrity, digestive function, and egg quality in laying hens with different ages, Poultry Science 100:100949.
Habig, C., M. Henning, U. Baulain, S. Jansen, A. Manfred Scholz, y S. Weigend, 2021, Keel Bone Damage in Laying Hens—Its Relation to Bone Mineral Density, Body Growth Rate and Laying Performance, Animals 11(6): 1546.
Hadini, S.H., P.R. Carneiro, C.J. Fitzsimmons, G.Y. Bédécarrats y M.J. Zuidhof, 2020, Post-Photostimulation Energy Intake Accelerated Pubertal Development in Broiler Breeder Pullets, Poultry Science 99: 2215–2229.
Hai, L., D. Rong y Z.Y. Zhang, 2000, The effect of thermal environment on the digestion of broilers. J. Anim. Physiol. Anim. Nut. 83: 57–64.
Hanlon, Ch., 2020, Abstract: Has the Genetic Selection of Commercial Layer Impacted the Control of the Reproductive Axis? A Thesis presented to The University of Guelph, Guelph Ontario, Canada.
Hartel, H., 1990, Evaluation of the dietary interaction of calcium and phosphorus in the high producing laying hens, British Poultry Science, 31: 473–494.
Hawes, R.O. y L.J. Kling, 1993, The Efficacy of Using Prelay and Early Lay Rations for Brown-Egg Pullets, Poultry Science 72: 1641-1649.

Hester, P.Y., 2017, Improving Egg Production and Hen Health with Calcium, Chapter 30 in Egg Innovations and Strategies for Improvements P.Y. Hester (Eds), Academic Press Estados Unidos.
Hetland, H., B. Svihus y M. Choct, 2005, Role of insoluble fiber on gizzard activity in layers. The Journal of Applied Poultry Research, 14: 38–46.
Hincke, M.T., Y. Nys, J. Gautron, K. Mann, A.B. Rodriguez Navarro y M.D. MaKee, 2012, The eggshell: structure, composition, and mineralization. Frontiers in Bioscience, 17: 1266–1280.
Hollands K.G. y R.S. Gowe, 1961, The Effect of Restricted and Full-Feeding during Confinement Rearing on First- and Second Year Laying House Performance, Poultry Science 40: 574–583.
Honda, B.T.B., A.S. Calefi, C. Costola-de-Souza, W.M. Quinteiro-Filho, J.G. da Silva Fonseca, V.F. de Paula y J. Palermo-Neto, 2015, Effects of heat stress on peripheral T and B lymphocyte profiles and IgG and IgM serum levels in broiler chickens vaccinated for Newcastle disease virus Poultry Science 94: 2375–2381.
Hoyle, C.M. y J.D. Garlich, 1987, Effect of a High Fat Diet Fed Prior to or at Sexual Maturity on Egg Weight, Poultry Science 66(7): 1202-1207.
Hurwitz, S. e I. Plavnik, 1989, Severe Feed Restriction in Pullets During the Early Growing Period: Performance and Relationships Among Age, Body Weight, and Egg Weight at the Onset of Production, Poultry Science 68(7): 914-924.
Itho, H. y T. Hatano, 1967, Calcium Metabolismin LayingHens, II. Changes in Eggshell Deposition of Dietary and Skeletal Calcium, J. Zootech. Sci., 38, (2): 54-61.
Jing, M., S. Zhao, A. Rogiewicz, B. A. Slominski, and J.D. House, 2018, Assessment of the minimal available phosphorus needs of pullets during the pre-laying period, Poultry Science 97: 557–567.
John, M., 2009, Functional morphology of the avian respiratory system, the lung-air sac system: efficiency built on complexity, Ostrich 79: 117–132.
Jung, L., S. HillemacherI, I. Tiemann, M. Lepke, D, Hinrichs, 2024, Presence of keel bone damage in laying hens, pullets, and roosters of local chicken breeds PLOS ONE 19(1): e0297586.
Kakhki, R.A.M., T. Heuthorst, A. Mills, M. Neijat y E. Kiarie, 2019, Interactive effects of calcium and top-dressed 25-hydroxy vitamin D3 on egg production, eggshell quality, and bones attributes in aged Lohmann LSL-lite layers, Poultry Science 98(3): 1254-1262.
Keshavarz, K. y S. Nakajima, 1993, Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. Poultry Science, 72: 144–153.
Keshavarz, K., 1998a, Investigation on the possibility of reducing protein, phosphorus, and calcium requirements of laying hens by manipulation of time of access to these nutrients, Poultry Science 77(9): 1320-1332.
Keshavarz, K., 1998b, Further investigations on the effect of dietary manipulation of protein, phosphorus, and calcium for reducing their daily requirement for laying hens, Poultry Science, 77: 1333–1346.
Khanal, T., T. Widowski, G. Bedoecarrats y E. Kiarie, 2019, Effects of pre-lay dietary calcium (2.5 vs. 4.0%) and pullet strain (Lohmann Brown vs. Selected Leghorn LSL-Lite) on calcium utilization and femur quality at first through to the 50th egg, Poultry Science Volume 98(10): 4919-4928.
Kim, D.H. y K.W. Lee, 2023, An update on heat stress in laying hens, World's Poultry Science Journal 79(4): 689-712.
Kim W.K., S.A. Bloomfield, T. Sugiyama y S. Ricke, 2012, Concepts and Methods for Understanding Bone Metabolism in Laying Hens, World's Poult. Sci. J. 68: 71–82.
Koçer, B., M. Bozkurt, K. Küçükyılmaz, G. Ege, H. Akşit, A. Orojpour, S. Topbaş, A. E. Tüzün, E. Bintaş y K. Seyrek, 2016, Effects of particle sizes and physical form of the diet on performance, egg quality and size of the digestive organs in laying hens, Europ. Poult. Sci., 80: 1612-9199.
Kpomasse, C.C., O.E. Oke, F.M. Houndonougbo, y K. Tona, 2021, Broilers production challenges in the tropics: a review, Vet Med Sci. 7: 831–842.
Kpomasse, C.C., Y.A.E. Kouame, O. N'nanle, F.M. Houndonougbo, K. Tona y O.E. Oke, 2023, The productivity and resilience of the indigenous chickens in the tropical environments: improvement and future perspectives, J Appl Anim Res. 51: 456–69.
Lara, L.J., y H.S. Rostagno, 2013, Impact of heat stress on poultry production. Animals 3: 356–369.
Lee, M.H. E.J. Cho, E.S. Choi, M.H. Bang y S.H. Sohn, 2016, The Effect of Hen Age on Egg Quality in Commercial Layer, Korean J. Poult. Sci. 43(4): 253-261.
Lee, P.J.W., A.L. Gulliver y T.R. Morris, 1971, A quantitative analysis of the literature concerning the restricted feeding of growing pullets, British Poultry Science 12(4): 413-437.
Leeson, S., J.D. Summers y L. Caston, 1993, Growth Response of Immature Brown-Egg Strain Pullets to Varying Nutrient Density and Lysine, Poultry Science 72(7): 1349-1358.
Leeson, S, y L.J. Caston, 1991, Growth and development of leghorn pullets subjected to abrupt changes in environmental temperature and dietary energy levels, Poultry Science 70: 1732–1738.
Lilburn M.S. y D.J. Myers-Miller, 1990, Dietary Effects on Body Composition and Subsequent Production Characteristics in Broiler Breeder Hens, Poultry Science 69: 1126–1132.
Lin, H, H.C. Jiao, J. Buyse, y E. Decuypere, 2006, Strategies for preventing heat stress in poultry. Worlds Poult Sci J. 62: 71–86.
Lin, H., L.F. Wang, J.L. Song, Y.M. Xie y Q.M. Yang, 2002, Effect of Dietary Supplemental Levels of Vitamin A on the Egg Production and Immune Responses of Heat-Stressed Laying Hens, Poultry Science 81: 458–465.
Lonkar, D., F.P. Savaliya, R.K. Mishra, A.B. Patel y N.J. Bhagora, 2022, Effect of Different Nutrient Density Prelay Diets on Production Performance of White Leghorn Layers, Indian Journal of Animal Research B4978: 1-5.
Lukić, M., Z. Pavlovski y Z. Škrbić, 2011, Adequate calcium nutrition and quality of eggshell and bones in layers: Innovative approach, Biotechnology in Animal Husbandry 27(3): 485-497.

Marcos, H.R., 2020, Effects of heat stress on the gut health of poultry. J Anim Sci. 98: 1–9.
Mashaly, M.M., G.L. Hendricks, M.A. Kalama, A.E. Gehad, A.O. Abbas y P.H. Patterson, 2004, Effect of Heat Stress on Production Parameters and Immune Responses of Commercial Laying Hens, Poultry Science 83: 889–894.
Mikhael S., A. Punjala-Patel y L. Gavrilova-Jordan, 2019, Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis Disorders Impacting Female Fertility, Biomedicines 7: 5.
Miller, P.C. y M.L. Sunde, 1975, Dietary Calcium Levels in Pre-Lay and Lay Diets in Leghorn Pullets, Poultry Science 54(6): 1856-1867.
Mishra, B. y R. Jha, 2019, Oxidative stress in the poultry gut: potential challenges and interventions. Front. Vet. Sci. 6: 60.
Molnár, A., L. Maertens, B. Ampe, J. Buyse, I. Kempen, J. Zoons y E. Delezie, 2016, Changes in egg quality traits during the last phase of production: is there potential for an extended laying cycle? British Poultry Science, 57: 842-847.
Molnar, A., 2017, Extended Production Cycle in Laying Hens, PhD thesis KU Leuven Lovaina, Bélgica.
Mongin, P. y B. Sauveur, 1974, Voluntary food and calcium intake by the laying hen, Br Poult Sci. 15(4): 349-359.
Mongin, P. y B. Sauveur, 1979, The specific calcium appetite of the domestic fowl, in: Boorman, K.N. & Freeman, B.M. (Eds) Food Intake Regulation in Poultry, pp. 171–189, Edinburgh, British Poultry Science, Edimburgo Reino Unido.
Morera, P., L. Basiricò, K. Hosoda y U. Bernabucci, 2012, Chronic heat stress up-regulates leptin and adiponectin secretion and expression and improves leptin, adiponectin and insulin sensitivity in mice, J Mol Endocrinol. 48: 129–138.
Muszyński S., E. Tomaszewska, P. Dobrowolski, M. Kwiecień, D. Wiącek D., I. Świetlicka, M. Skibińska, M. Szymańska-Chargot, J. Orzeł, M. Świetlicki, M. Arczewska , M. Szymanek, M. Zhyla, M. Hułas-Stasiak, H. Rudyk y A. Tomczyk-Warunek, 2018, Analysis of Bone Osteometry, Mineralization, Mechanical and Histomorphometrical Properties of Tibiotarsus in Broiler Chickens Demonstrates a Influence of Dietary Chickpea Seeds (Cicer Arietinum L.) Inclusion as a Primary Protein Source. PLoS One 13: e0208921.
Nawaz, A.H., K. Amoah, Q.Y. Leng, I.H. Zheng, W.L. Zhang y L. Zhang, 2021, Poultry response to heat stress: its physiological, metabolic, and genetic implications on meat production and quality including strategies to improve broiler production in a warming world. Front. Vet. Sci. 8: 699081.
Nie, W., B. Wang, J. Gao, Y. Guo y Z. Wang, 2018, Effects of dietary phosphorous supplementation on laying performance, egg quality, bone health and immune responses of laying hens challenged with Escherichia coli lipopolysaccharide, Journal of Animal Science and Biotechnology 9(53): 1-11.
Nys, Y., J. Gautron, J.M. Garcia-Ruiz, y M.T. Hincke, 2004, Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. Comptes Rendus Palevol, 3: 549–562.
Olgun, O. y A. Aygun, 2016, Nutritional factors affecting the breaking strength of bone in laying hens, World's Poultry Science Journal 72(4): 821-832.
Onagbesan, O.N., S. Metayer, K .Tona, J. Williams, E. Decuypere y V. Bruggeman, 2006, Effects of genotype and feed allowance on plasma luteinizing hormones, follicle-stimulating hormones, progesterone, estradiol levels, follicle differentiation, and egg production rates of broiler breeder hens, Poultry Science 85(7): 1245-5128.
Orban, J.L. y D.A. Roland Sr., 1990, Correlation of Eggshell Quality with Tibia Status and Other Production Parameters in Commercial Leghorns at Oviposition and 10 Hour Postoviposition, Poultry Science 69: 2068-2073.
O'Sullivan, N.P., 2009, What are the egg traits that further sustainable production? International Poultry Production, 17 (6): 15–16.
Pelletier, N., M. Ibarburu y H.W. Xin, 2014, Comparison of the environmental footprint of the egg industry in the United States in 1960 and 2010, Poultry Science, 93: 241-255.
Pelicia, K., E.A. Garcia, A.B.G. Faitarone, A.P. Silva, D.A. Berto, A.B. Molino y F. Vercese, 2009, Calcium and Available Phosphorus Levels for Laying Hens in Second Production Cycle, Brazilian Journal of Poultry Science 11(1): 39 – 49.
Perez-Bonilla, A., S. Novoa, J. Garcia, M. Mohiti-Asli, M. Frikha y G.G. Mateos, 2012, Effects of energy concentration of the diet on productive performance and egg quality of brown egg-laying hens differing in initial body weight, Poultry Science, 91: 3156–3166.
Portella, F.J., L. J. Caston y S. Leeson, 1988, Apparent feed particle size preference by laying hens. Can. J. Anim. Sci. 68: 915-922.
Pfaff Jr., R.E. y R.E. Austic, 1976, Influence of Diet on Development of the Abdominal Fat Pad in the Pullet, The Journal of Nutrition 106(3): 443–450.
Quinteiro-Filho, W.M., A.S. Calefi, D.S.G. Cruz, T.P.A, Aloia, A. Zager, C.S. Astolfi-Ferreira, J A Piantino Ferreira, S. Sharif y J. Palermo-Neto, 2017, Heat stress decreases expression of the cytokines, avian β-defensins 4 and 6 and toll-like receptor 2 in broiler chickens infected with Salmonella enteritidis. Vet Immunolog Immunopathol. 186: 19–28.
Rahn H., A. Ar y C.V. Paganelli, 1979, How Bird Eggs Breathe. Scientific American 240: 46–55.
Rahn H., C.V. Paganelli y A. Ar, 1987, Pores and gas exchange of avian eggs: a review. J. Exp. Zool. 1: 165–172.
Rama Rao, S.V., 2005, Recent trends in feeding of layer pullets [Technical bulletin]. RR Lab; pp. 19–24.
Rath N.C., G.R. Huff, W.E. Huff y J.M. Balog, 2000, Factors Regulating Bone Maturity and Strength in Poultry. Poultry Science 79: 1024–1032.
Regmi, P., T.S. Deland, J.P. Steibel, C.I. Robison, R.C. Haut, M.W. Orth y D.M. Karcher, 2015, Effect of rearing environment on bone growth of pullets, Poultry Science 94: 502–511.
Richards, M.P., R.W. Rosebrough, C.N. Coon y J.P. McMurtry, 2010, Feed intake regulation for the female broiler breeder: in theory and in practice. J Appl Poult Res. 19: 182–193.
Roberts, J.R., 2004, Factors Affecting Egg Internal Quality and Eggshell Quality in Laying Hens, The Journal of Poultry Science 41(3): 161-177.
Rodríguez-Navarro, A.B., P. Marie, Y. Nys, M.T. Hincke y J. Gautron, 2015, Amorphous calcium carbonate controls avian eggshell mineralization: A new paradigm for understanding rapid eggshell calcification, J Struct Biol. 190(3): 291-303.
Roland Sr, D.A., C.E. Potman y R.L. Hilburn, 1978, The Relationship of Age on Ability of Hens to Maintain Eggshell Calcification When Stressed with Inadequate Dietary Calcium, Poultry Science 57: 1616-1621.

Roland Sr, D.A., 1980, The Ability of Young and Old Hens to Change Shell Deposition with Sudden Natural Drastic Changes in Egg Size, Poultry Science 59(4): 924-926.
Romanoff, A.L. y A.J. Romanoff, 1949, The Avian Egg, John Wiley & Sons Inc. New York
Safaa, H.M., E. Jimenez-Moreno, D.G. Valencia, M. Frikha, M.P. Serrano y G.G. Mateos, 2009, Effect of main cereal of the diet and particle size of the cereal on productive performance and egg quality of brown egg-laying hens in early phase of production. Poultry Science, 88: 608–614.
Sandilands, V., 2011, The laying hen and bone fractures., Veterinary Record, 169: 411–412.
Saunders-Blades, J.L., J.L. MacIsaac , D.R. Korver y D.M. Anderson, 2009, The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens, Poultry Science 88 : 338–353.
Sauveur, B. y M.D. de Reviers, 1988 Reproduction and Egg Production in Poultry [Reproduction des Volailles et Production d'oeufs]. INRA Paris France.
Sayed, Y, M. Hassan, H.M. Salem G.E.,2023, Prophylactic influences of prebiotics on gut microbiome and immune response of heat-stressed broiler chickens. Sci Rep. 13: 1–17.
Selye, H, 1976, Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can. Med. Assoc. J. 115: 53-56.
Sharp. P.J., M.C. MacNamee, R.T. Talbot, R.J. Sterling y T.R. Hall, 1984, Aspects of the neuroendocrine control of ovulation and broodiness in the domestic hen, J Exp Zool 232(3): 475-483.
Sharp, P.J., I.C. Dunn y S. Creolini, 1992, Neuroendocrine control of reduced persistence of egg-laying in domestic hens: evidence for the development of photorefractoriness, Journal of Reproduction and Fertility, 94: 221–235.
Silva, E.P., E.B. Malheiros, N.K. Sakamura, , K.S. Venturini, L. Hauschild, J.C.P. Dorigam, y J.B.K. Fernandez, 2015, Lysine requirements of laying hens, Livestock Science 173: 69-77.
Sing, H., y A.W. Nordskog, 1982, Significance of body weight as a performance parameter. Poultry Science 61: 1933-1938.
Solomon, S.E., 1991, Egg and Eggshell Quality, London, Wolfe Publishing, Londres Reino Unido
Solomon, S.E., 2002, The oviduct in chaos. World's Poultry Science Journal, 58: 41–48.
Stapane, L., N. Le Roy, J. Ezagal, A.B. Rodriguez-Navarro, V. Labas, L. Combes-Soia, M.T. Hincke y J. Gautron, 2020, Avian eggshell formation reveals a new paradigm for vertebrate mineralization via vesicular amorphous calcium carbonate, J Biol Chem 295(47): 15853-15869.
Stefanello, C., T.C. Santos, A.E. Murakami, E.N. Martins y T.C. Carneiro, 2014, Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals, Poultry Science 93(1): 104-113.
Sujatha, T., R. Asha Rajiniband y R. Prabakaran, 2014, Efficacy of pre-lay diet, Journal of Applied Animal Research, 42(1): 57-64.
Sujatha, T. y C. Thangapandian. 2019, Study on High Dense Feed in Commercial Layers to Alleviate Physiological Stress During Transitional Phase, Journal of the Andaman Science Association 24(1): 56-60.
Summers, J.D., 1993, Influence of prelay treatment and dietary protein level on the reproductive performance of white leghorn hens. Poultry Science 72: 1705–1713.
Summers, J.D., S. Leeson y D. Spratt, 1987, Rearing Early Maturing Pullets, Poultry Science 66(11): 1750-1757.
Summers, J.D. y S. Leeson, 1993, Influence of Diets Varying in Nutrient Density on the Development and Reproductive Performance of White Leghorn Pullets, Poultry Science 72(8): 1500-1509.
Surai, P.F., I.I. Kochish, V.I. Fisinin, y M.T. Kidd, 2019, Antioxidant Defence systems and oxidative stress in poultry biology: an update. Antioxidants, 8: 235.
Syafwan, S, R.P. Kwakkel y W.M.A. Verstegen, 2011, Heat stress and feeding strategies in meat-type chickens. Worlds Poult Sci J. 67: 653–674.
Tarlton, J.F. L.J. Wilkins, M.J. Toscano, N.C. Avery y L. Knott, 2013, Reduced bone breakage and increased bone strength in free range laying hens fed omega-3 polyunsaturated fatty acid supplemented diets, Bone 52(2): 578-586.
Tollba, A.A.H. y M.S.H. Hassan, 2003, Using some natural additives to improve physiological and productive performance of broiler under high temperature condition. Egypt Poult Sci. 23: 327–340.
Toscano, M.J., I.C. Dunn, J.P. Christensen, S. Petow, K. Kittelsen y R. Ulrich, 2020, Explanations for keel bone fractures in laying hens: are there explanations in addition to elevated egg production? Poultry Science, 99: 4183-4194.
Traineau, M., I. Bouvrel, C. Mulsant, L. Roffidal, C. Launay y P. Lescoat, 2013, Effects on performance of ground wheat with or without insoluble fiber or whole wheat in sequential feeding for laying hens. Poultry Science 92: 2475–2486.
Traineau, M., I. Bouvrel, C. Mulsant, L. Roffidal, C. Launay y P. Lescoat, 2015, Modulation of energy and protein supplies in sequential feeding in laying hens. Animal, 9: 49–57.
Tsang, C.P. y A.A. Grunder, 1984, Effects of vitamin D3 deficiency on estradiol-17 beta metabolism in the laying hen, Endocrinology 115(6): 2170-2175.
Tsang, C.P., A.A. Grunder, H. Soares y R. Narbaitz, 1988, Effects of cholecalciferol or calcium deficiency on oestrogen metabolism in the laying hen, British Poultry Science 29(4): 753-759.
Tsutsui K., E. Saigoh, K. Ukena, H. Teranishi, Y. Fujisawa, M. Kikuchi, S. Ishii y P.J. Sharp, 2000, A Novel Avian Hypothalamic Peptide Inhibiting Gonadotropin Release, Biochem. Biophys. Res. Commun. 275: 661–667.
van Eck, L., A. Schouten, S. Powell, D. Lamot, H. Enting y R. Kwakkel, 2024, The effect of diet density on allometry in pullet growth and early egg production, Poultry Science 103: 103211.
van Emous, R., R. Kwakkel, M. van Krimpen y W. Hendriks, 2013, Effects of growth patterns and dietary crude protein levels during rearing on body composition and performance in broiler breeder females during the rearing and laying period, Poultry Science 92: 2091-2100.

van Sambeek, F., 2010, Progress in layer genetics "Longer production cycles from a genetic perspective".http://www.isapoultry.com/~/media/Files/ISA/Information/Technical%20Bulletins/Breeding/Longer%20production%20cycles%20from%20a%20genetic%20perspective.ashx.
Waiz, D, D. Gautam, R. Nagda y G. Bhat, 2016a, Effect of wet feeding on feed conversion efficiency in laying hens during summer season. Iran J Appl Anim Sci. 6: 383–387.
Waiz, D, D. Gautam, N. Nisar, N. Rathore y R. Nagda, 2016b, Effect of wet feeding on egg quality parameters in laying hens. Vet Pract. 17: 142–144.
Wang, Y, L. Xia, T. Guo, C. Heng, L. Jiang, D. Wang, J. Wang, K. Li y X. Zhang, 2020, Research note: metabolic changes and physiological responses of broilers in the final stage of growth exposed to different environmental temperatures. Poultry Science 99: 2017–2025.
Wellock, I.J., G. C. Emmans y I. Kyriazaki, 2004, Describing and predicting potential growth in the pig, Animal Science 78: 379-388.
Whitehead C.C., 2004, Overview of Bone Biology in the Egg-Laying Hen, Poultry Science 83: 193–199.
Wistedt, A., Y. Ridderstråle, H. Wall y L. Holm, 2019, Age-related changes in the shell gland and duodenum in relation to shell quality and bone strength in commercial laying hen hybrids, Acta Vet Scand 61: 1-14.
Wolc, A., J. Arango, P. Settar, N.P. O'Sullivan, V.E. Olori, M.S. White, W.G. Hill y J.C.M. Dekkers, 2012, Genetic parameters of egg defects and egg quality in layer chickens, Poultry Science 91: 1292-1298.
Xin, Q., N. Ma, H. Jiao, X. Wang , H. Li, Y. Zhou, J. Zhao y H. Lin, 2022, Dietary Energy and Protein Levels During the Prelay Period on Production Performance, Egg Quality, Expression of Genes in Hypothalamus-Pituitary-Ovary Axis, and Bone Parameters in Aged Laying Hens, Front. Physiol., Sec. Avian Physiology 13: 887381.
Zaboli, G, X. Huang, X. Feng y D.U. Ahn, 2019, How can heat stress affect chicken meat quality? A review. Poultry Science 98: 1551–1556.
Zakaira, A.H., T. Akaira, T. Miyaki y K. Imai, 1983, The Effect of Aging on the Ovarian Follicular Growth in Laying Hens, Poultry Science 62: 670-674.
Zang, H., K. Zhang, X. Ding, S. Bai, J.M. Hernandez y B. Yao, 2011, Effects of Different Dietary Vitamin Combinations on the Egg Quality and Vitamin deposition in the Whole Egg of Laying Hens, Brazilian Journal of Poultry Science 13(3): 189-196.
Zhang, B. y C. Coon, 1994, Nutrient Modelling for Laying Hens, Journal of Applied Poultry Research 3(4): 416-431.

AVEM
Aviespecialistas de México

SISTEMATIZACIÓN DE INFORMACIÓN: UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA MEJORAR EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO AVÍCOLA. UNA REVISIÓN DE LITERATURA

Hans Mann
Central Agrícola, Guatemala, Guatemala, CA.
hans.mann@centralagricola.com

1) Introducción:

La avicultura es una parte importante de la economía nacional, y la avicultura, como industria ganadera básica, desempeña un papel importante en la promoción del desarrollo económico, la garantía del abastecimiento en el mercado y el aumento de los ingresos de los empresarios avícolas. Los productos avícolas (carne y huevos) son una vía importante para que los seres humanos obtengan proteína animal. En el contexto de la cuarta revolución industrial con el rápido desarrollo de la tecnología de la información, el crecimiento de la población mundial, la mejora del nivel de consumo y la aceleración de la urbanización han impulsado continuamente la demanda del mercado de productos avícolas. La carne de ave, especialmente de pollo, es la carne blanca más popular y su consumo seguirá aumentando durante la próxima década. Se estima que la producción anual de aves de corral superará los 37 mil millones en 2050, mientras que la fuerza laboral agrícola y avícola está disminuyendo rápidamente, acelerando la industria avícola de la gestión manual convencional a métodos de producción inteligentes a gran escala.

Las empresas avícolas modernas necesitan un sistema de gestión completo para ayudar a gestionar y analizar sus actividades diarias de producción. El sistema debe abarcar aspectos tales como la gestión de la oficina de personal, la gestión de compras, ventas e inventarios, la vigilancia y el control del medio ambiente en los galpones avícolas y la supervisión de la información individual de las gallinas comerciales de cualquier edad fisiológica. Al mismo tiempo, también debe incluir la gestión de la trazabilidad de los productos, el diagnóstico y la alerta temprana de las enfermedades de las aves para satisfacer la necesidad de desarrollo futuro.

La observación manual y el juicio empírico se utilizan a menudo en la industria avícola tradicional para detectar la información de las gallinas y el entorno de cría. Sin embargo, con la mejora continua de la escala de cría, estos métodos manuales no solo consumen mucho tiempo y mano de obra, sino que también son costosos. Además, no se puede garantizar la integridad y la puntualidad de la detección de la información, lo que limita en gran medida la eficiencia de la detección de la información avícola y el desarrollo de técnicas de agricultura de precisión. Según una encuesta, una granja avícola en los Estados Unidos emplea a menos de dos personas en promedio, lo que hace que la tecnología de avicultura de precisión caracterizada por la automatización de la detección de la información, la toma de decisiones y la respuesta inteligentes y la interdisciplinariedad se conviertan gradualmente en una tendencia tecnológica y una herramienta poderosa para liberar la fuerza laboral, garantizar el bienestar de las aves de corral y mejorar el nivel de automatización de la detección de la información.

Con el desarrollo de la avicultura intensiva y a gran escala, se han aplicado tecnologías y métodos más inteligentes y automatizados en la avicultura, como la tecnología de identificación por radiofrecuencia, la tecnología de Internet de las cosas (IoT) y la tecnología en la nube. Al mismo tiempo, existen métodos como la detección de enfermedades avícolas, el monitoreo de la dieta de las aves de corral, el monitoreo ambiental en galpones avícolas, el seguimiento y trazabilidad de los productos y la detección de anomalías en los galpones avícolas para lograr una agricultura de precisión. Se han desarrollado sistemas de adquisición de datos basado en red utilizando el software LabVIEW para el monitoreo ambiental en el manejo de gallinas, que describe la construcción del hardware del sistema de adquisición de datos y el proceso de adquisición de datos. El método también nos proporciona una referencia para construir un módulo de monitoreo ambiental. British Irvine exploró la cadena de valor de la carne de pollo de engorde británico y proporcionó un método para construir el módulo de trazabilidad en el sistema de gestión de la avicultura a través de su análisis en profundidad de la cadena de valor. La investigación sobre la aplicación de sistemas de detección inalámbricos junto con redes móviles y plataformas en la nube a algunos sistemas agrícolas en cultivos nos ha proporcionado nuevas ideas para desarrollar un sistema de información similar para la avicultura.

En los últimos años, cada vez son más los investigadores que se dedican al estudio de la avicultura de precisión. Algunos investigadores ayudan a los granjeros a controlar y monitorear el estado de salud de las aves de corral a través de IOT, análisis de imágenes y otras tecnologías. Otros investigadores construyen plataformas en línea y utilizan sensores inteligentes para registrar y gestionar la información de producción en tiempo real. Aunque las técnicas de detección inalámbrica y plataforma en la nube están muy avanzadas, no existe un sistema completo que cubra todas las funciones para satisfacer las necesidades de gestión de la avicultura. Las dificultades técnicas incluyen la construcción unificada del sistema, la división razonable de los módulos funcionales, la buena cooperación mutua entre los módulos, la interacción de software y hardware y la inteligencia del sistema.

2) Arquitectura de un Sistema de Gestión:

La estructura general del sistema. El sistema se divide en tres capas, que son el sistema de gestión superior, la capa intermedia de servicio de datos (también conocida como capa intermedia) y la capa subyacente (también conocida como capa inferior, incluidas las instalaciones de hardware en las casetas avícolas. La capa superior es un sistema de gestión de software que proporciona una buena interfaz visual. El sistema de gestión se divide en un módulo de ofimática, un módulo de gestión de la producción, un sistema experto y un módulo de trazabilidad. En cuanto a la capa intermedia, la base de datos en la nube se utiliza para almacenar los datos y la información generada por la capa superior y la capa inferior y, al mismo tiempo, construir un entorno de red razonable para resolver problemas de comunicación mutua mediante la configuración del servidor subyacente. En la capa inferior, en las casetas, los sensores ambientales, los dispositivos de recepción y transmisión Wi-Fi y las microcomputadoras de un solo chip se pueden configurar para adquirir y transmitir oportunamente información ambiental e información individual de las aves de corral (incluida la información sobre el peso de las aves de corral, la información de datos de ingesta de alimento, la información de datos de agua potable, la información sobre la calidad de los huevos de las gallinas, etc.). Extractores y ventiladores de intercambio gaseoso, almohadillas de enfriamiento evaporativo, calentadores y otros equipos colocados en la caseta para regular parámetros ambientales como la temperatura y la humedad en el mismo.

Los métodos de transmisión de información, las estrategias de transmisión local y la configuración de los nodos de red en las naves avícolas, son de importancia crítica para el éxito del sistema de gestión. La transmisión de datos entre la caseta y el sistema de control ambiental del mismo se realiza principalmente mediante un sistema de comunicación por cable adecuado, como un bus de campo. Existen algunas desventajas (por ejemplo, configurar demasiados puntos finales de red, reglas de asignación de direcciones de dispositivo y otros problemas) de usar un sistema inalámbrico completo. Por lo tanto, la red de área local de la casa utiliza una construcción híbrida inalámbrica/alámbrica. Como se muestra en la Tabla 1, entre los tres modos de transmisión inalámbrica comúnmente utilizados (es decir, Bluetooth, Wi-Fi y ZigBee), la tecnología Wi-Fi tiene la distancia de transmisión más larga y la velocidad de transmisión más rápida; por lo tanto, se seleccionó la tecnología Wi-Fi como método de transmisión inalámbrica en las casetas avícolas.

Los programas modernos utilizan sistemas de bases de datos en la nube con accesos a niveles de usuarios, ya que cuenta con una buena interfaz de operación visual y numerosas herramientas auxiliares de análisis. Puede generar archivos relacionados con la base de datos, como diagramas E-R (diagrama de relación de entidad) y diccionario de datos con un solo clic, y también puede generar datos de prueba para garantizar que la prueba funcione durante el desarrollo de la base de datos. Como centro central de un sistema de gestión de información de avicultura, la base de datos en la nube debe llevar a cabo el análisis de requisitos, el diseño conceptual, el diseño de la estructura lógica, la construcción del modelo E-R, la estructura de la tabla de diseño y las relaciones de clave primaria-foránea en el proceso de diseño y construcción. El servidor en la nube puede acceder a la dirección de la intranet del sistema, que tiene las ventajas de una velocidad de lectura rápida y una configuración conveniente. Los usuarios de Internet con derechos de acceso pueden acceder a la dirección de red externa y la base de datos puede ser leída y escrita. En la etapa de diseño, la memoria de la base de datos seleccionada es de 1024 MB, CPU de 1 núcleo, la capacidad de almacenamiento es de 20 GB y el número máximo de conexiones es de 2000. Se confirma en la prueba de desarrollo real que esta configuración puede satisfacer las necesidades de desarrollo.

El sistema de gestión utiliza el lenguaje C++ como principal herramienta de desarrollo, el último marco Qt5 como biblioteca de soporte de código abierto y Qt Creator como IDE (Entorno de Desarrollo Integrado) para la compilación y el desarrollo. El marco funcional del sistema de gestión de la avicultura. Todo el sistema se divide en cuatro módulos funcionales. El módulo de gestión de la producción realiza principalmente el monitoreo de los parámetros ambientales en el gallinero, el monitoreo de la información de crecimiento de las aves de corral individuales y la gestión de las operaciones de producción en el gallinero. El módulo de gestión de oficinas cumple principalmente con las tareas empresariales, como la gestión de personal, la gestión financiera y la facturación. El módulo del sistema experto combina tecnología de inteligencia artificial, como la minería de datos y el aprendizaje automático, para (1) realizar un análisis del índice de forma del huevo; (2) proporcionar estándares de alimentación, recomendaciones de cría, análisis de mortalidad y otras funciones, y (3) realizar el diagnóstico de enfermedades de las aves de corral y un sistema de alerta temprana basado en el análisis de audio e imágenes de las aves de corral. Los módulos son funcionalmente independientes, con capacidad para compartir datos.

La capa inferior del sistema se compone principalmente de redes de sensores inalámbricos, que se utilizan para administrar los nodos terminales y la información de datos cargada. La composición de la red de sensores inalámbricos en la caseta. Cada nodo de terminal utiliza comandos AT para buscar automáticamente la red inalámbrica por nombre y unirse a ella. Después de unirse a la red, puede obtener de forma independiente la dirección IP del dispositivo y la dirección IP del servidor. Abra el modo de transmisión transparente a través del comando AT y utilice el protocolo de transmisión UDP para transmitir la información de datos. Al mismo tiempo, para resumir y reenviar la información de datos cargada por cada nodo terminal, también se debe configurar un servidor de datos en la red de sensores inalámbricos de la nave avícola. La red de sensores inalámbricos y varios tipos de equipos inteligentes pueden resolver el problema de obtener y transmitir varios tipos de información sobre la cría (por ejemplo, información ambiental, información sobre el peso de las aves de corral, información sobre la dieta de las aves de corral). Esta sección toma principalmente la información ambiental como ejemplo para presentar el proceso de implementación de la adquisición y carga de información. En el ejemplo, se despliegan cuatro unidades de detección de información ambiental en la red de sensores inalámbricos.

Se debe configurar un servidor de datos en la red de sensores inalámbricos de la nave avícola para procesar y reenviar la información de datos obtenida por los nodos terminales de la red. Por lo tanto, el servidor de la nave avícola debe elegir un controlador que tenga un procesador, un sistema operativo, una tarjeta de red inalámbrica y que pueda almacenar programas. Teniendo en cuenta el duro entorno de trabajo en el gallinero, esta investigación seleccionó la computadora personal industrial (IPC) con mayores capacidades a prueba de agua, polvo y anti interferencia que el servidor de datos. Además de los atributos y características de las computadoras ordinarias, también tiene una capacidad anti interferente más fuerte y una capacidad de trabajo ininterrumpido a largo plazo, que son adecuadas para su uso en el contexto del entorno de la avicultura. Para realizar el procesamiento y la carga de la información de datos generada por el nodo terminal y, al mismo tiempo, realizar la gestión y el control de la red de sensores inalámbricos en el gallinero, se diseña y carga un conjunto de programas de servidor en el servidor del gallinero para lograr el propósito mencionado anteriormente.

Como nodo terminal de la red de sensores inalámbricos, la unidad de detección de información ambiental (EISU) en la caseta avícola debe contener varios sensores ambientales digitales, como sensores de temperatura y humedad, sensores de concentración de dióxido de carbono, sensores de concentración de sulfuro de hidrógeno, sensores de intensidad de luz, sensores de velocidad del viento, etc., y también debe estar equipada con un microprocesador y un módulo de transmisión inalámbrica. Los parámetros de rendimiento de los sensores ambientales utilizados son proporcionados por el fabricante de los equipos. Se utilizan varios sensores ambientales para detectar y medir los valores de los parámetros del entorno circundante y utilizar el protocolo I2C para transmitirlos al microcontrolador a través del bus de datos. El microcontrolador es responsable de empaquetar la información de datos ambientales de acuerdo con el formato de paquete de datos y cargarla en el servidor de la caseta a través del módulo de transmisión inalámbrica. Finalmente, el servidor de la nave avícola carga los datos en la base de datos en la nube.

Durante el proceso de transmisión de datos de la red de sensores inalámbricos en el gallinero, no es necesario establecer una conexión uno a uno, solo se necesita una conexión uno a muchos para realizar la comunicación

entre el nodo terminal y el servidor. Debido a la gran cantidad de información de datos transferida entre el nodo terminal y el servidor y el número de transmisiones, combinado con los requisitos funcionales reales, la comunicación de red entre el nodo terminal y el servidor de la red de sensores inalámbricos en el gallinero utiliza principalmente el protocolo de transmisión UDP y la tecnología de enchufe. El nodo terminal empaqueta los datos en un formato determinado y utiliza tecnología de socket para enviar mensajes a la dirección IP específica y al número de puerto del servidor de la nave avícola. Cuando la información de datos se envía correctamente al servidor en el gallinero, el programa servidor descarga el paquete de datos del puerto monitoreado; luego, utiliza el formato de transmisión especificado para dividir la información y ejecuta la instrucción SQL correspondiente según el tipo de datos para cargar los datos en la base de datos en la nube.

Dado que hay muchos dispositivos de transmisión de datos colocados en el gallinero, es necesario establecer un nodo de enrutamiento en el gallinero para reenviar el paquete de datos de red a la base de datos en la nube. Teniendo en cuenta el problema de las fluctuaciones de la red, el servidor de la nave puede estar desconectado de la base de datos en la nube, y la información de datos generada en la nave avícola tiene características en tiempo real y continuas, por lo que se debe diseñar un programa de protección de datos para evitar la pérdida de información de datos. La estrategia de transmisión local del nodo de enrutamiento, teniendo en cuenta los factores de la red de modo que se mejore la seguridad de los datos del sistema.

El proceso de construcción del sistema de gestión de la información de la avicultura podría modularse, construirse y probarse uno por uno. En primer lugar, se puede construir una plataforma completa para el sistema de gestión y, a continuación, se pueden ensamblar los módulos funcionales. Con el fin de analizar el rendimiento de la red de sensores inalámbricos construida en la caseta avícola, probamos la intensidad de la señal, la velocidad de transmisión y la estabilidad de la transmisión de la unidad de detección de información ambiental. Debe probarse la intensidad de la señal y la velocidad de transmisión de la unidad de detección de información ambiental en cuatro condiciones: (1) Sin antenas externas, jaulas u otros obstáculos; (2) No hay antenas externas, sino jaulas y otros obstáculos; (3) Equipado con una antena externa, que no está bloqueada por obstáculos como jaulas; y (4) Equipado con una antena externa, y está bloqueado por obstáculos como jaulas. Cada condición se probó tres veces, y toma el valor promedio como la intensidad de la señal y la velocidad de transmisión después de que la señal se estabiliza durante aproximadamente 30 s.

Los resultados de una prueba deben mostrar que la intensidad de la señal de la unidad de detección de información ambiental disminuirá a medida que aumente la distancia, y los obstáculos como las jaulas en el gallinero también afectarán débilmente la intensidad de la señal de la unidad de detección de información ambiental; cuando se utiliza una antena de ganancia de 2 dBi, puede mejorar efectivamente la intensidad de la señal de la unidad de detección de información ambiental, pero la velocidad de transmisión de la unidad de detección de información ambiental básicamente no se ve afectada por la distancia, y su velocidad de transmisión se ha mantenido estable en 150-180 Mbits. Esto demuestra que la unidad de detección de información ambiental está equipada con una antena de ganancia de 2 dBi, que puede funcionar normalmente en un gallinero con un radio de 40 m.

AVEM
Aviespecialistas de México

3) Adquisición de Datos y el Costo de Errores:

La adquisición de datos es quizás uno de los componentes más fáciles del big data para la producción avícola. En la actualidad, existen numerosas fuentes de adquisición de datos que van desde las estadísticas de producción en la granja de reproductores, pasando por la cadena de valor, hasta las preferencias de los consumidores a nivel minorista. Sin embargo, no todos estos datos se recopilan y pueden analizarse en profundidad, ya que algunas fuentes de datos se analizan (en el mejor de los casos) o se mantienen sin analizar de forma aislada (en el peor de los casos). Sin embargo, para lograr una mayor eficiencia, es importante que todos estos datos se capturen y analicen de manera holística. A menudo se describe que las organizaciones construyen un lago de datos, que es similar a la construcción de un depósito de agua artificial. Primero se crea la presa, luego se llena de agua (datos) y una vez que el lago comienza a llenarse, el agua (datos) se utiliza para otros fines de valor agregado. Un lago de datos proporciona una plataforma para la rápida acumulación de datos y, potencialmente, su aplicación. Si bien esto representa un avance significativo, el análisis de la transformación y la aplicación de los datos es más complejo

y representa un gran desafío para las organizaciones. Una vez creado un lago de datos, la propensión a medir y capturar datos aumenta significativamente y puede provocar una sobrecarga de datos. Medir algo por medirlo debe evitarse, ya que a veces lo que cuenta, no se puede contar y lo que se puede contar, no cuenta (Cameron, 1963). Para cada nuevo flujo de datos, se debe aplicar un análisis de los beneficios propuestos antes de su creación, y una revisión después de que esté activo, para evaluar el valor de los datos. El valor de los flujos de datos puede estar infravalorado o sobreestimado, y es en el análisis y la interpretación de estos datos donde se requiere experiencia para maximizar el valor y la aplicación de los macrodatos.

La producción avícola eficiente depende de datos precisos. Actualmente existen objetivos de rendimiento para cada paso de la cadena de producción, desde las granjas de reproductoras hasta la planta de incubación, para el crecimiento en la granja, la eficiencia alimenticia y el procesamiento. Para la mayoría de los integradores, estos valores pueden resumirse como céntimos/kg de productos cárnicos de pollo de engorde o céntimos/docena de huevos para los productores de huevos de mesa. Si aceptamos el punto de referencia promedio de una tasa de error del 1% en la entrada manual de datos y lo multiplicamos por los casos de entrada manual de datos, las consecuencias de estos pasos en falso pueden ser profundas. La capacidad humana para detectar o evitar errores es inherentemente defectuosa y si es necesario ingresar datos varias veces, esto solo agrava el problema. Un concepto empresarial común es la regla 1-10-100, que ilustra la importancia de corregir los errores de entrada de datos en la fuente. De acuerdo con la regla 1-10-100, cuesta $1 verificar la exactitud de los datos en el punto de entrada, $10 corregir o limpiar los datos en forma de lote y $100 (o más) por registro si no se realiza ninguna acción correctiva. Si bien el valor absoluto de los errores de datos individuales y acumulativos para las empresas puede diferir, el principio sigue siendo el mismo. Es esencial contar con datos fiables y oportunos. El uso de las tecnologías subyacentes de la Agricultura 4.0 para capturar y reportar estos datos automáticamente utilizando sensores conectados y plataformas en línea conducirá a una mayor precisión y facilitará la toma de decisiones oportunas.

Con el advenimiento de la ventilación de túnel para el alojamiento de pollo de engorde o gallinas de postura comercial hace más de tres décadas, la capacidad de controlar y monitorear las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad relativa, la ventilación, la iluminación, la calidad del aire y el índice de calor / confort de las aves ha avanzado significativamente. Dado que estas tecnologías existen actualmente y se utilizan ampliamente, el presente examen se centrará en las nuevas tecnologías y en la identificación de oportunidades de desarrollo. Sin embargo, vale la pena señalar que, aunque la regulación y el monitoreo de las condiciones ambientales se han vuelto cada vez más automatizados, la presentación de informes y la difusión de estos registros más allá de la granja a menudo están fragmentados y siguen siendo un área de mejora. Los medidores de agua son más comunes en las granjas que los dispositivos de medición de alimentos; Sin embargo, no todas las granjas o cobertizos los tienen. Tal vez esté afirmando lo obvio de que el consumo de agua es un indicador crucial en cuanto a la salud de las aves y, por extrapolación, puede dar alguna indicación de la ingesta de alimento. Sin embargo, los datos sobre el agua a menudo se pasan por alto en la granja o no se registran y reportan de manera que apoyen mejor el manejo óptimo de los lotes. El registro de los datos sobre la ingesta de agua cada hora, si no diariamente, ayudaría a identificar las tendencias en el consumo, en particular la disminución de la ingesta que puede preceder a un problema de salud y brindaría la oportunidad de una investigación e intervención tempranas.

Cuando se trata de la producción avícola, los principales impulsores de la eficiencia y la rentabilidad se centran en la alimentación. Si bien los piensos no son más que uno de los muchos componentes de la producción avícola, su contribución a la eficiencia de la producción merece una atención especial. Según se informa, los costos de alimentación representan entre el 60 y el 70% de los costos de producción y, por lo tanto, no se puede exagerar su importancia para la economía de una empresa avícola. Sin embargo, paradójicamente, esta métrica es quizás la menos reportada. El volumen de alimento consumido para cada lote o ciclo de producción se aproxima en la granja utilizando diversas combinaciones de recibos de puente de pesaje de la fábrica de alimentos y estimaciones subjetivas, que van desde algo tecnológicamente avanzado hasta arrojar piedras a los silos. De los métodos tecnológicamente más avanzados para la estimación del uso de alimentos, algunos son propensos a errores y requieren mucho más mantenimiento que otros. Cualquiera que sea el método que se utilice, aunque podría considerarse un paso adelante en el monitoreo de los alimentos balanceados, la precisión de los datos puede ser

cuestionable y, por lo tanto, potencialmente engañosa. La necesidad (y el deseo) de medir e informar con precisión la ingesta de alimento en tiempo real es significativa y los beneficios de estos datos no deben subestimarse. Otro factor que contribuye a la imprecisión de los informes de alimentación es que, a pesar de las mejores intenciones, la mayoría de las veces el uso de alimentación se informa después de que el lote ha terminado y con datos incompletos. La precisión de esto también se basa en la estimación de la alimentación que queda en el silo al final del lote. Dados los métodos anteriores que se utilizan rutinariamente para estimar el inventario de silos, la aplicación de un monitoreo más preciso del volumen de alimento es clave para proporcionar datos significativos diariamente e incluso cada hora, y en tiempo real. Enfatizar el potencial de este flujo de datos para mejorar la toma de decisiones de producción avícola da como resultado la capacidad de comparar parvadas, cobertizos, granjas y cambios en el manejo / nutrición. En la actualidad, a menos que se disponga de granjas de investigación, la capacidad de cuantificar con precisión los efectos sobre el rendimiento/eficiencia de las aves en respuesta a los cambios en la formulación de los alimentos balanceados, los aditivos de estos y la fabricación de los alimentos terminados es limitada. La posibilidad de controlar la entrega de alimento en las casetas avícolas y, por lo tanto, calcular el consumo diario de alimento, es quizás uno de los desafíos más importantes en la granja, sin embargo, las oportunidades aquí son enormes.

El peso vivo del cuerpo y la uniformidad del lote son importantes para evaluar el crecimiento, la eficiencia alimenticia y los problemas subyacentes de salud o bienestar. En la actualidad, el peso corporal medio y la uniformidad de las aves se obtienen mediante el pesaje manual de un subconjunto de la parvada o, con menos frecuencia, mediante plataformas de pesaje automáticas. El pesaje manual de las aves es laborioso y limita el número de aves muestreadas, lo que podría tergiversar la parvada. Las plataformas de pesaje automáticas están sujetas a los caprichos del comportamiento de las aves y del peso corporal. Las aves más pesadas son menos propensas a subirse a las plataformas de pesaje, lo que lleva a una subestimación del peso corporal de la bandada hasta en un 30%. Concordantemente, este escenario es más evidente hacia el final del ciclo de producción en pollos de engorde, cuando el peso corporal de los pollos de engorde es crucial para programar los tiempos de cosecha. Se están desarrollando técnicas de análisis de imágenes que estiman el peso corporal del ave en función de la superficie del ave junto con plataformas de pesaje, con resultados que muestran una mayor precisión (menos del 5% de error) en comparación con el pesaje manual.

Las personas que trabajan en las casetas modernos de ponedoras de jaulas pasan más de la mitad de su tiempo de trabajo diario revisando directamente a las gallinas para monitorear la salud y el bienestar. Además, las cintas mecánicas de recolección de huevos deben revisarse para detectar posibles obstrucciones que puedan resultar en huevos agrietados o rotos durante el proceso de recolección. Estas son tareas importantes en la gestión rentable de los sistemas modernos de jaulas de varios niveles. Sin embargo, cuando los niveles superiores de las jaulas están por encima del nivel de los ojos de los operarios, se puede cuestionar la eficacia de los humanos para realizar estas tareas con precisión. Investigamos si el análisis de imágenes de video (VIA, la capacidad de una computadora para 'ver') podría realizar automáticamente dos tareas comunes: contar el número de gallinas por jaula y escanear la cinta de recolección de huevos para identificar objetos extraños (que no sean huevos). Las cámaras pueden estar conectadas al alimentador robótico que se mueve a lo largo de la parte delantera de las jaulas. Las vistas del interior de las jaulas y la cinta de recolección de huevos se grabaron en video digital mientras el alimentador robótico se movía. Se evaluaron dos prototipos de VIA, inicialmente en el instituto de investigación y posteriormente en una granja comercial. Utilizando los respectivos algoritmos de detección automática que se desarrollaron para la investigación, se contó correctamente el 79% de los objetivos (patas de gallina) en las jaulas, mientras que el 95% de los objetos extraños en la cinta de recolección de huevos se detectaron. Los resultados demuestran que la VIA se puede utilizar para monitorear las cintas de huevos en busca de posibles obstrucciones, y tiene potencial como tecnología para contar gallinas (Cronin y cols 2008).

Así mismo Geffen y cols (2020) mencionan que, el conteo manual de gallinas en jaulas en batería en grandes granjas avícolas comerciales es una tarea desafiante: requiere mucho tiempo y, a menudo, es impreciso. El conteo automático de gallinas puede ayudar a una agencia reguladora o a un funcionario de inspección a estimar el número de aves vivas en una jaula y, por lo tanto, a garantizar la densidad de animales, a garantizar que cumplan con las regulaciones gubernamentales o los requisitos de certificación de calidad. La caseta de prueba tenía 87 m

de largo, conteniendo 37 jaulas en batería apiladas en filas de 6 pisos de altura a ambos lados de la estructura. Cada jaula albergaba de 18 a 30 gallinas, para un total aproximado de 11 000 gallinas ponedoras. Un comedero se mueve a lo largo de las jaulas. Se instaló una cámara en un brazo conectado al alimentador, que fue desarrollado específicamente para este propósito. Se utilizó una lente gran angular para encuadrar una jaula completa en el campo de visión. Se diseñaron algoritmos de detección y seguimiento para detectar gallinas en jaulas; los videos grabados se procesaron primero utilizando un algoritmo de detección de objetos de red neuronal convolucional (CNN) llamado Faster R-CNN, con una entrada de imágenes desplazadas de vista multiangular. Después de la detección inicial, se rastreó la ubicación relativa de las gallinas a lo largo del comedero y se guardó mediante un algoritmo de seguimiento. La información se añadía con cada fotograma adicional, a medida que el brazo de la cámara se movía a lo largo de las jaulas. El recuento del algoritmo se comparó con el realizado por un observador humano (el "estándar de oro"). Un conjunto de datos de validación de aproximadamente 2000 imágenes logró una precisión del 89,6% a nivel de jaula, con un error absoluto medio de 2,5 gallinas por jaula. Estos resultados indican que el modelo desarrollado en este estudio es factible para obtener estimaciones bastante buenas del número de gallinas ponedoras en jaulas en batería.

4) Aplicaciones de Big Data en Avicultura:

El advenimiento de las tecnologías modernas nos permite recopilar cada vez más datos a un costo de adquisición decreciente. El término "big data" ha recibido una importante atención de los medios de comunicación en los últimos años; mientras que su definición tiende a variar según las disciplinas. El número de filas (n) o columnas (p), o ambas, en los datos suele ser grande, de modo que limita la inspección visual. Aunque las teorías estadísticas clásicas asumen más puntos de datos que los predictores, p aumenta con frecuencia con n en lugar de permanecer constante. Esto da lugar a un escenario en el que p es mucho mayor que n (n << p), y requiere un tratamiento estadístico adecuado para abordar la maldición de la dimensionalidad (Hastie y cols 2009). Además, los big data a menudo no son datos limpios: pueden contener observaciones faltantes, datos confusos o valores atípicos caracterizados como datos desordenados y ruidosos. Por lo tanto, puede ser necesaria una cantidad considerable de edición de datos antes del ajuste del modelo. Debido a que la definición de "grande" depende de los recursos computacionales disponibles, big data se puede definir como datos que consumen más de un tercio de la memoria de acceso aleatorio de los recursos informáticos tras el análisis debido a su gran tamaño. Por lo tanto, la definición de "grande" está en constante cambio y existe una brecha cada vez mayor entre el tamaño cada vez mayor de los macrodatos y las habilidades de gestión de datos de los científicos. Además, aunque la visualización de datos juega un papel crucial en el resumen e identificación de las características de los datos, el big data impide trazar la imagen completa. En tal caso, la visualización interactiva, con capacidades para acercar y alejar, ayuda a investigar las estructuras globales y locales de los gráficos. La reciente disponibilidad del paquete para construir aplicaciones web interactivas es un ejemplo. Además, es necesario utilizar herramientas de investigación reproducibles, como Git/GitHub, R Markdown/Notebooks y Jupyter Notebooks, para que el análisis de big data sea reproducible. El big data ofrece oportunidades interesantes para la ciencia de data.

El aprendizaje automático, también conocido como aprendizaje estadístico, es un subcampo de la inteligencia artificial dedicado al estudio de algoritmos de predicción e inferencia. Aprender de los datos es el núcleo del aprendizaje automático. La minería de datos comparte un espíritu similar con el aprendizaje automático y, a menudo, se discute en el mismo contexto. Si se es estricto en la definición, la minería de datos abarca el estudio de los sistemas de bases de datos, lo que se vuelve crucial cuando se trata de conjuntos de datos extremadamente grandes. En la mayoría de los casos prácticos, el aprendizaje automático tiene como objetivo final aprender, o elegir entre, un conjunto de modelos de probabilidad candidatos que puedan predecir mejor los datos no observados. Técnicamente, la selección se denomina "proceso de capacitación". Sin embargo, ¿cómo podemos medir la capacidad de predicción de la función seleccionada? Supongamos, por ejemplo, que nuestra tarea es predecir un fenotipo de un animal a partir de un conjunto de genotipos y que tenemos un conjunto de datos que consta de pares de fenotipos y genotipos correspondientes. En el aprendizaje automático, este tipo de tarea se denomina aprendizaje supervisado, y el objetivo de la predicción (fenotipo) se denomina señal de supervisión. Si

los fenotipos son discretos, como el estado de la enfermedad, la tarea aquí se denomina más específicamente tarea de clasificación. Si los fenotipos son cuantitativos, se conoce como tarea de regresión. Por el contrario, cuando el conjunto de datos está incompleto y solo los genotipos están disponibles para los individuos seleccionados (sin fenotipos), la tarea se denomina aprendizaje no supervisado.

Para elegir un modelo de probabilidad con buena capacidad de predicción en el aprendizaje supervisado, se comienza dividiendo el conjunto de datos en dos conjuntos, un conjunto de datos de entrenamiento y otro de prueba, donde el último de los cuales desempeña el papel del conjunto de datos que no está disponible para nosotros en este momento. Cuando seleccionamos un modelo de probabilidad, utilizamos exclusivamente la información del conjunto de datos de entrenamiento. En particular, construimos una función objetivo basada exclusivamente en el conjunto de datos de entrenamiento para representar la elección del usuario de las propiedades deseables para la función. A continuación, elegimos del conjunto de modelos de probabilidad el que maximiza la función objetivo. Una propiedad ingenua utilizada en este ejemplo específico es la probabilidad de que el modelo de probabilidad observe fenotipos en el conjunto de datos de entrenamiento dados los genotipos correspondientes en el conjunto de datos de entrenamiento. La desviación en la predicción del modelo del conjunto de datos de prueba basada en el contenido de un conjunto de datos de prueba real se denomina error de prueba y sirve como medida de la capacidad de predicción. Este proceso se denomina validación cruzada.

Por construcción, el modelo de probabilidad seleccionado es bueno, por ejemplo, para reproducir fenotipos a partir de genotipos en el conjunto de datos de entrenamiento, al menos mejor que en el conjunto de datos de prueba. Esto quiere decir que el error de entrenamiento, o el error en las predicciones del modelo de probabilidad en el conjunto de datos de entrenamiento, está destinado a ser menor que el del conjunto de datos de prueba. Por lo tanto, vemos que el error de entrenamiento no es una buena medida de la capacidad de predicción del modelo de probabilidad porque no tiene sentido predecir lo que ya hemos observado. Idealmente, consideramos un error como una variable aleatoria que mide la desviación de la predicción de la muestra aleatoria de la verdadera distribución subyacente. La expectativa de este error aleatorio se denomina error de generalización. El error de prueba, o el error en el conjunto de datos de prueba, sirve como una aproximación empírica del error de generalización. En parte de la literatura, el error de generalización se refiere a la diferencia entre el error de prueba y el error de entrenamiento. La capacidad de generalización de un modelo de probabilidad se considera alta si produce un error de generalización bajo. Por definición, la capacidad de generalización es la capacidad del modelo de probabilidad para generalizar nuestro conocimiento dado a observaciones aún no vistas y se utiliza como una medida del grado de sobreajuste. Sin embargo, la definición de capacidad de predicción puede diferir según la tarea. No todos los experimentos correlacionan cada entrada con cada salida. Por ejemplo, si nuestra tarea es predecir la distribución espacial del enjambre de microorganismos, la tarea entra en la categoría de aprendizaje no supervisado. Para esta familia de tareas, el objetivo de nuestra búsqueda es una distribución de probabilidad que se asemeja mucho a la distribución empírica observada. Para tales tareas se desarrollaron las medias K y el análisis de componentes principales. La capacidad de predicción aquí se mide por el grado en que las muestras de nuestra distribución de probabilidad seleccionada, como un conjunto, se asemejan al conjunto de muestras observadas. La desviación del conjunto generado de muestras con respecto al conjunto observado a menudo se cuantifica mediante un estadístico llamado divergencia de Kullback-Leibler (Kullback y Leibler, 1951).

5) Análisis de Grandes Bases de Datos:

El crecimiento de la población, junto con los factores socioeconómicos, se han asociado históricamente a la escasez de alimentos. En los últimos 50 años, la población mundial ha crecido de tres mil millones a más de seis, creando una gran demanda de alimentos. Según estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2009), la población mundial aumentaría en más de un 30% hasta 2050, lo que significa que se debe lograr un aumento del 70% en la producción de alimentos. La degradación de la tierra y la contaminación del agua, el cambio climático, el desarrollo sociocultural (por ejemplo, la preferencia dietética por la proteína de la carne), las políticas gubernamentales y las fluctuaciones del mercado añaden incertidumbre a la seguridad alimentaria, definida como el acceso a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos por parte de todas las personas del planeta. Estas incertidumbres desafían a la agricultura a mejorar la productividad, reduciendo al

mismo tiempo su huella ambiental, que actualmente representa el 20% de las emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero (GEI).

Para satisfacer estas crecientes demandas, desde la década de 1990 se han puesto en marcha varios estudios e iniciativas. Los avances en la modelización del crecimiento de los cultivos y el monitoreo del rendimiento, junto con los sistemas globales de navegación por satélite (por ejemplo, GPS) han permitido la localización precisa de las mediciones puntuales en el campo, de modo que se pueden crear mapas de variabilidad espacial, un concepto conocido como "agricultura de precisión". Hoy en día, las prácticas agrícolas están siendo apoyadas por la biotecnología y las tecnologías digitales emergentes como la teledetección, la computación en la nube y el Internet de las Cosas (IoT), lo que lleva a la noción de "agricultura inteligente". El despliegue de las nuevas tecnologías de la información y la comunicación (TIC) para la gestión de cultivos/explotaciones agrícolas a nivel de campo amplía el concepto de agricultura de precisión, mejorando las tareas existentes de gestión y toma de decisiones por contexto, conocimiento de la situación y ubicación.

La agricultura inteligente es importante para hacer frente a los desafíos de la producción pecuaria en términos de productividad, impacto ambiental, seguridad alimentaria y sostenibilidad. La producción pecuaria sostenible es muy relevante y está directamente relacionada con la agricultura inteligente, ya que mejora la calidad ambiental y la base de recursos de la que depende la productividad, satisfaciendo las necesidades alimentarias humanas básicas. Puede entenderse como un enfoque ecosistémico de la producción pecuaria, que integra las ciencias biológicas, químicas, físicas, ecológicas, económicas y sociales de manera integral, con el fin de desarrollar prácticas agrícolas inteligentes seguras que no degraden nuestro medio ambiente. Para hacer frente a los desafíos de la dicha producción inteligente y la avicultura sostenible, como señalan. Por lo tanto, es necesario analizar y comprender mejor los ecosistemas agrícola y pecuarios complejos, multivariados e impredecibles. Las tecnologías digitales emergentes antes mencionadas contribuyen a esta comprensión al monitorear y medir continuamente varios aspectos del entorno físico, produciendo grandes cantidades de datos a un ritmo sin precedentes. Esto implica, como señalan, la necesidad de recopilación, almacenamiento, preprocesamiento, modelado y análisis a gran escala de grandes cantidades de datos procedentes de diversas fuentes heterogéneas.

Los macrodatos agrícolas y pecuarios crean la necesidad de grandes inversiones en infraestructuras para el almacenamiento y procesamiento de datos, que deben funcionar casi en tiempo real para algunas aplicaciones (por ejemplo, la predicción meteorológica, el seguimiento de las plagas de los cultivos y las enfermedades de las aves). Por lo tanto, el análisis de big data es el término utilizado para describir una nueva generación de prácticas, diseñadas para que los empresarios avícolas y las organizaciones relacionadas puedan extraer valor económico de volúmenes muy grandes de una amplia variedad de datos al permitir la captura, el descubrimiento y/o el análisis a alta velocidad. El análisis de big data se está utilizando con éxito en diversas industrias, como la banca, los seguros, la comprensión y personalización del comportamiento de los usuarios en línea, así como en estudios ambientales y producción pecuaria. Las organizaciones gubernamentales utilizan el análisis de big data para mejorar su capacidad de servir a sus ciudadanos abordando los desafíos nacionales relacionados con la economía, la atención médica, la creación de empleo, los desastres naturales y el terrorismo.

Aunque el análisis de big data parece ser exitoso y popular en muchos dominios, comenzó a aplicarse a la agricultura y avicultura solo recientemente), cuando las partes interesadas comenzaron a percibir sus beneficios potenciales. Según algunas de las mayores corporaciones agrícolas, el asesoramiento a medida de los agricultores basado en el análisis de big data podría aumentar los beneficios globales anuales de los cultivos en unos 20.000 millones de dólares. La motivación para preparar esta encuesta se deriva del hecho de que el análisis de big data en la agricultura es una técnica moderna con una popularidad creciente, mientras que los recientes avances y aplicaciones de big data en otros dominios indican su gran potencial. Las encuestas relevantes actuales cubren principalmente aspectos teóricos de esta técnica (por ejemplo, el marco conceptual, la socioeconomía, los procesos empresariales, la red de partes interesadas) o se centran en subdominios particulares como la teledetección y análisis geoespacial. Por lo tanto, la principal contribución de esta encuesta es que presenta una visión más enfocada de los problemas particulares que se encuentran en la agricultura, en comparación con las encuestas existentes, donde el análisis de datos es un aspecto clave y las soluciones se encuentran dentro del ámbito del big data. Nuestra encuesta destaca los datos utilizados, los métodos y técnicas empleados, brindando

información específica desde una perspectiva técnica sobre el potencial y las oportunidades del análisis de big data, los problemas abiertos, las barreras y las formas de superarlas.

Las industrias agrícolas están en la cúspide de una revolución digital. La creciente demanda de mayores rendimientos, combinada con las limitaciones de los recursos finitos como la tierra y el agua, ha ejercido una mayor presión sobre los insumos de la agricultura. El aumento de la demanda de productos agrícolas debido al aumento de la población mundial y el crecimiento socioeconómico han intensificado la presión sobre el sector agrícola para que produzca más con menos. Las proyecciones actuales de crecimiento demográfico estiman que la población mundial alcanzará los 9.000 millones de personas en 2050 y, para alimentar a este número de personas, la producción total de alimentos deberá aumentar aproximadamente un 70% entre 2007 y 2050 (FAO, 2009). Tradicionalmente, para satisfacer este aumento de la demanda, el sector agrícola aplicaba la mayoría de las veces el principio de "cuanto más grande, mejor" y ampliaba la producción despejando más tierras o aumentando la intensidad de la producción. Sin embargo, esta estrategia es cada vez más difícil desde el punto de vista medioambiental y a menudo entra en conflicto con la expansión de los núcleos de población que priorizan las tierras cultivables para el desarrollo urbano. A este dilema se suma la estimación de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura de que entre el 20 y el 40 % de la producción mundial anual de cultivos se pierde a causa de plagas y enfermedades. Para contrarrestar esta ineficiencia, un enfoque simplista sería aplicar más fertilizantes y/o insecticidas, pero paradójicamente (desde el punto de vista del volumen de producción) los consumidores y los gobiernos exigen que se apliquen menos productos químicos.

Esto es un poco paralelo a la dirección actual de la producción avícola. Las tecnologías tradicionales, como los antibióticos promotores del crecimiento, se enfrentan a un mayor escrutinio y presión a nivel mundial para que se reduzcan o eliminen por completo. Si bien la producción avícola puede ampliarse añadiendo más galpones (dentro de los límites) para satisfacer la creciente demanda, el volumen de productos avícolas que se pueden producir a partir de cada unidad por metro cuadrado también se ha enfrentado a una presión a la baja debido a la reducción de las densidades de población. Estos escenarios tienen el potencial de perjudicar el crecimiento del volumen de producción y provocar escasez en la producción de alimentos en el mismo momento en que se necesita más. También es evidente que la industria avícola no puede confiar únicamente en las estrategias de expansión del pasado para satisfacer este aumento de la demanda. Para ayudar a hacer frente a este reto, una propuesta clave para facilitar el aumento de la producción de alimentos en una época de escasez de insumos radica en la Agricultura 4.0 y las tecnologías de big data.

Sin embargo, la mayoría de los métodos clásicos de procesamiento de datos a veces no son eficientes en la elaboración de respuestas y factores biológicos como la selección genética para la producción de carne o huevos, que influyen en el desarrollo y metabolismo del embrión durante el proceso de eclosión. En la actualidad están surgiendo una serie de estrategias de datos y conocimiento para desarrollar la avicultura de precisión, como los sistemas expertos que involucran la minería de datos, la lógica difusa (Sousa y cols 2016) y redes neuronales artificiales. El desempeño de las RNA cuando se aplica a la predicción de la incubabilidad de los huevos es satisfactorio, pero no explica cómo se utilizan las características para resolver el problema. Por otro lado, la minería de datos (DM) explica la adquisición de conocimiento en términos de reglas lógicas, como la construcción de árboles de clasificación. La DM se ha aplicado con éxito en la ciencia animal al entorno animal, la producción de reproductoras ponedoras, la certificación de cría, el bienestar animal y la predicción de la calidad del huevo. Al aplicar DM para organizar y analizar un conjunto considerable de datos, las soluciones se obtienen más rápido que los métodos tradicionales con un rendimiento predictivo óptimo, que son necesarios en aplicaciones industriales. Otra ventaja de la aplicación de la DM es que una mezcla de datos numéricos, categóricos y de fecha, puede tolerar datos faltantes y ruidosos, aumentando así la eficiencia y detectando posibles problemas de calidad en los procesos, incluyendo la cadena avícola.

Un ejemplo de aplicaciones prácticas de la minería de datos la proponen Taysi y cols (2020). El algoritmo de minería de datos Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) es un método de regresión no paramétrico empleado para obtener la predicción del peso vivo mediante el uso de mediciones corporales. El estudio se llevó a cabo para investigar la relación entre el peso corporal, los rasgos de medición corporal lineal y el efecto de los rasgos de medición corporal lineal en el peso corporal de la ponedora comercial de color marrón plateado Hy-

Line. Se utilizaron un total de cien (n= 100) ponedoras comerciales Hy-Line de color marrón plateado de 22 semanas de edad para las mediciones corporales, a saber; peso corporal (BW) en kilogramos, longitud del pico (BK), longitud del cuerpo (BL), circunferencia corporal (BG), longitud del vástago (SL) y longitud del ala (WL) en centímetros. Además, se utilizaron los métodos de correlación de Pearson y MARS para el análisis de los datos. Los resultados de la correlación revelaron que el peso corporal tuvo una correlación significativa estadísticamente alta negativa con el WL (r= -0,48**) y el BL (r= -0,61**). Los resultados de MARS desarrollaron un modelo de regresión no paramétrico con coeficiente de determinación (R2) = 1, coeficiente de determinación ajustado (R 2 adj.) = 1, relación de desviación estándar (razón DE) = 0,006, error cuadrático medio (RMSE) = 0,001 y correlación de Pearson (r) = 1 entre los valores previstos y reales (P < 0,01) del peso corporal. El modelo MARS reveló que WL y BL tuvieron un efecto en el blanco y negro de la capa comercial de color marrón plateado Hy-Line. Los hallazgos sugieren que la WL y la BL tuvieron un efecto sobre el peso corporal, por lo tanto, los productores de gallinas ponedoras podrían usar WL y BL para la selección durante la cría para mejorar el peso corporal. En conclusión, los modelos MARS desarrollados en este estudio podrían ser utilizados por los criadores de gallinas ponedoras para la selección durante la reproducción.

Welch y cols (2023) mencionan que, para mantener la salud y el bienestar de las gallinas ponedoras es clave para lograr la máxima productividad y se ha convertido en algo importante para garantizar la confianza del consumidor en la industria. Los sistemas de producción de huevos de gallinas camperas representan diversos entornos, con una serie de desafíos que socavan el rendimiento de las parvadas que no se experimentan en los sistemas de producción más convencionales. Estos desafíos pueden incluir una mayor exposición a parásitos e infecciones bacterianas o virales, junto con lesiones y daños en el plumaje como resultado de una mayor libertad de movimiento e interacción con los compañeros de parvada. La capacidad de pronosticar la incidencia de estos problemas de salud a lo largo del ciclo de vida de la producción de gallinas ponedoras individuales podría resultar en una oportunidad para lograr ahorros económicos significativos. Al brindar la oportunidad de reducir las tasas de mortalidad y aumentar las tasas de puesta de huevos, la implementación de sistemas de monitoreo de parvadas puede ser una solución viable. Este estudio investiga el uso de tecnologías de identificación por radiofrecuencia (RFID) y aprendizaje automático para identificar patrones de uso del sistema de producción y pronosticar el estado de salud de gallinas individuales. Se presenta un análisis de los datos subyacentes que se centra en la identificación de correlaciones y estructuras que son significativas para explicar el rendimiento de los modelos predictivos que se entrenan en estos conjuntos de datos desafiantes y altamente desequilibrados. Se desarrolló un flujo de trabajo de aprendizaje automático que incorpora el re-muestreo de datos para superar el desequilibrio del conjunto de datos y la identificación/refinamiento de características de datos importantes. Los resultados demuestran un rendimiento prometedor, con un promedio del 28% de la enfermedad hepática manchada, el 33% de las lombrices redondas y el 33% de las infecciones por tenía predichas correctamente al final de la producción. El análisis mostró que el monitoreo de las gallinas durante las primeras etapas de la producción de huevos muestra un rendimiento similar al de los modelos entrenados con datos obtenidos en períodos posteriores de producción de huevos. El trabajo futuro podría mejorar estas predicciones iniciales mediante la incorporación de flujos de datos adicionales para crear una visión más completa de la salud del lote.

Otras aplicaciones de minería de datos es referida por Celik y cols (2017) en donde en un estudio se comparó el desempeño predictivo de algunos algoritmos de minería de datos implementados en la estimación del peso del huevo (EW), algunas medidas de rasgos de calidad del huevo en codornices. Estos rasgos de calidad son el peso de la albúmina (AW), el peso de la yema (YW), el peso específico (SW), el índice de albúmina (AI), la altura de la albúmina (AH), el índice de yema (YI), el peso de la cáscara (SHW), el grosor de la cáscara (SHT), la unidad de Haugh (HU) y el índice de forma (SI). Para comparar el rendimiento predictivo de estos algoritmos en el Modelo, se calcularon criterios de bondad de ajuste como el coeficiente de determinación (R 2 %), el coeficiente de determinación ajustado (Adj. R2 %), el coeficiente de variación (CV), la razón DE, el error cuadrático medio (RMSE), el error de aproximación relativa (RAE) y el coeficiente de correlación de Pearson, entre los valores observados y los predichos. El promedio más pesado de PE de 13,516 g se obtuvo del subgrupo de aquellos con PA > 8 cm. Los resultados mostraron que el análisis basado en CHAID exhaustivo podría ser útil para futuras investigaciones

relacionadas con la caracterización del huevo de codorniz mejor que los proporcionados por los algoritmos CART y CHAID.

6) Tienen Sentido los Datos e Información Analizada:

Los Big Data y las nuevas metodologías de Mashine Learning [ML] (aprendizaje de máquinas) han presentado nuevas y emocionantes oportunidades para analizar una variedad de nuevos tipos de datos y predecir resultados importantes. Sin embargo, vienen con limitaciones, como todos los modelos; (1) requieren grandes cantidades de datos variables para el desarrollo de modelos robustos para evitar la dependencia y el sobreajuste del conjunto de datos (lo que daría lugar a una mala predicción sobre datos nuevos o no vistos), y (2) la mayoría de ellos carecen de la transparencia a la que estamos acostumbrados. Por ejemplo, la mayoría de los algoritmos de ML no producen una ecuación, o un conjunto de ecuaciones, que expliquen el "por qué" o el "cómo" se hace una predicción desde una perspectiva matemática, lo que contrasta con nuestros modelos más tradicionales.

Sin embargo, esto plantea la pregunta: en la era del Big Data y el ML, ¿todavía necesitamos saber "por qué"? Esta cuestión se ha planteado recientemente en el ámbito de la producción animal, pero también ha sido considerada de forma más amplia por otros en diversos ámbitos. Abre una discusión filosófica más amplia sobre la aprehensión del conocimiento y el valor de comprender la causalidad cuando podemos predecir el resultado sin ella. Desde la perspectiva del usuario final (es decir, el productor avícola, el nutricionista o el consultor), la respuesta es probablemente "no", en todos los tipos de modelos. Puede usar un automóvil para llegar a donde necesita ir sin comprender cómo funciona el automóvil. Sin embargo, esperas que tu mecánico y los ingenieros de diseño sepan cómo funciona tu coche. La confianza del usuario final se deriva de la apreciación de la experiencia en conocimientos que esas personas aportan para usted. Esta pregunta se plantea a menudo en el ámbito médico, en relación con la aplicación de la IA, por ejemplo, para diagnosticar afecciones médicas. Otra razón para reflexionar sobre la importancia del "por qué" es el "análisis de oportunidades", o el examen de escenarios alternativos nunca vistos a través de simulaciones de modelos, que es un nicho importante para los MM. En particular, escenarios con altos niveles de complejidad que son difíciles o casi imposibles de incluir en diseños experimentales o que pueden no verse en los datos en los que se entrenan los modelos de Mashine Learning.

Para abreviar algunas de las críticas en torno al ML debido a la falta de transparencia, se ha trabajado para introducir el conocimiento previo, la lógica y la causalidad en los modelos avícolas de ML. Un ejemplo es el modelado de lógica difusa, que es un método para representar y utilizar información que es vaga o carece de certeza pero que podría, por ejemplo, representar conceptos como "conocimiento común". Es posible que esto no se considere causalidad per se, pero está diseñado para imitar la comprensión humana en escenarios que utilizan declaraciones cualitativas (es decir, "SI... THEN") en lugar de valores cuantitativos. Por ejemplo, la aplicaron de modelos de lógica difusa para predecir la producción de huevos. En este sistema, hay tres entradas: la calidad de la ingesta de alimento, la temperatura ambiente y el peso corporal de 12 semanas, y todas pasan por una "fuzzificación" para traducir los datos cuantitativos en grupos cualitativos. A continuación, se aplican reglas de lógica difusa en una serie de declaraciones IF-THEN, como "SI la calidad del alimento es baja Y la temperatura ambiente es alta, ENTONCES la producción de huevos será baja". A continuación, se produce la defuzzificación para proporcionar un resultado cuantitativo para la producción de huevos (%). El modelado bayesiano es otro ejemplo de oportunidad para incorporar conocimientos previos en modelos basados en datos. Los modelos bayesianos conectan la nueva información (la probabilidad) con el conocimiento previo. De esta manera, los modelos bayesianos pueden evolucionar a medida que evoluciona la comprensión científica de un sistema y, en teoría, pueden permitir que un modelo "aprenda" continuamente. En aves de corral, las redes bayesianas se han utilizado para examinar las relaciones entre las características epigenéticas y el estrés, predecir la producción de huevos y predecir el contenido energético metabolizable aparente de los alimentos.

La integración de enfoques de modelado ya está ocurriendo en campos como la nutrición y la alimentación de precisión. La nutrición de precisión, o alimentación de precisión, se define como "proporcionar la cantidad correcta de alimento con los nutrientes correctos a los animales individuales correctos en el momento adecuado". Para lograr este objetivo, un sistema automático suele incluir (1) un conocimiento preciso de los animales individuales (identidades, producción de huevos, peso corporal, etc. en tiempo real), (2) la capacidad de

pronosticar el rendimiento al día siguiente y (3) un algoritmo integrado de toma de decisiones para guiar lo que se debe alimentar a cada individuo en función de los pronósticos del día siguiente y la respuesta prevista a la entrega de nutrientes. El punto (1) puede ser comparativamente más difícil para los sistemas avícolas, con a veces decenas de miles de aves, en comparación con los sistemas que alimentan a menos animales más grandes, como cerdos o vacas. Se han desarrollado estaciones de alimentación individuales para aves, lo que demuestra que la alimentación individual es posible en las parvadas de aves. Sin embargo, es posible que las estructuras actuales de las casetas y los sistemas de alimentación deban rediseñarse y revisarse sustancialmente para implementar dichos sistemas en la práctica.

Con respecto a los ítems (2) y (3), los algoritmos de Mashine Learning (ML) serían adecuados para pronosticar la producción de huevos al día siguiente y el peso corporal. Sin embargo, no todos los sistemas de alimentación de precisión requieren el ítem (2), como es el caso del sistema previamente descritos por investigadores. En este sistema, no se requiere pronóstico porque el ciclo de retroalimentación es muy rápido y el efecto de la última sesión de alimentación en el peso corporal se mide la próxima vez que el ave ingresa al sistema. Sin embargo, en el caso de los animales que no tienen restricciones alimentarias, como los pollos de engorde o los pavos, es probable que la previsión sea más importante. Para el ítem (3), el MM, solo o híbrido con modelos de ML, puede actuar como la herramienta de toma de decisiones para determinar el suministro apropiado de nutrientes para el animal, al mismo tiempo que se consideran numerosos resultados alternativos (incluidos los impactos en la eficiencia, el costo y el impacto ambiental). Un sistema basado en modelos en tiempo real para controlar el crecimiento y las emisiones de nitrógeno y amoníaco de los cerdos ha sido descrito previamente. El núcleo de este sistema se basa en un MM de crecimiento porcino, así como en un optimizador para ajustar la formulación de la dieta para optimizar el crecimiento. Al alimentar el componente MM, el modelo utiliza datos de BW y consumo de alimento en tiempo real de la caseta porcina.

En comparación con la producción porcina, la nutrición de precisión (para aves individuales) sigue siendo un concepto relativamente nuevo para la producción avícola. El trabajo realizado por un grupo de investigadores sobre el desarrollo de un sistema de alimentación de precisión para aves de corral es probablemente el análogo publicado más cercano a lo que se ha hecho en cerdos. Este sistema es un sistema de alimentación secuencial para alimentar a reproductoras individuales de pollos de engorde utilizando el peso corporal en tiempo real de un ave como entrada para un algoritmo de alimentación de precisión. Este valor se compara con una curva de peso corporal preasignada para el ave, que se utiliza para tomar decisiones para la asignación de alimento y se ha demostrado que este sistema aumenta sustancialmente la uniformidad del lote. Además de las reproductoras de pollos de engorde, estudios recientes informaron que se utilizó este sistema de alimentación de precisión para ponedoras, pollos de engorde y líneas puras. Otros trabajos incluyen, por ejemplo, el proyecto Feed-a-Gene que se está llevando a cabo en el INRA. El objetivo general de ese trabajo es desarrollar un sistema de gestión para la alimentación de precisión con el fin de aumentar la resiliencia a las condiciones ambientales fluctuantes y mejorar la eficiencia alimentaria en cerdos y aves. Al igual que en otros modelos este sistema implicará la recopilación de datos en tiempo real en la granja sobre los animales (p. ej., peso corporal, ingesta de alimento, actividad) y su entorno (p. ej., temperatura, humedad) y alimentará esta información en modelos nutricionales empíricos y mecanicistas para calcular los requisitos en función del rendimiento esperado e implementar decisiones de alimentación en consecuencia. Pero también deben reconocerse los desafíos de la aplicación de sistemas avícolas de precisión en la práctica, para ilustrar que el camino hacia la "toma de decisiones inteligentes" puede no ser el mismo para todos los sistemas.

7) Aplicaciones Prácticas de Grandes Bases de Datos en Avicultura:

Hoy en día, la tecnología está jugando un papel cada vez más importante en el progreso social, lo que ha contribuido al rápido desarrollo de la investigación sobre la tecnología de percepción de la información en la avicultura. Con el fin de promover diversas investigaciones sobre la percepción de la información para servir mejor a la industria de la avicultura, los investigadores resumieron las aplicaciones de diferentes dispositivos de percepción de la información y algoritmos de software en la avicultura. En particular, se analiza en profundidad el estado actual y las tendencias del desarrollo de tecnologías de percepción basadas en visión artificial para la

detección de objetivos avícolas, el reconocimiento de comportamientos y la detección de la salud. Sin embargo, la avicultura está mayoritariamente centralizada, con altas densidades de cría, alta complejidad en el manejo individual de los animales y escasa estabilidad del sistema. Sólo mediante la combinación completa de las ventajas de las diferentes tecnologías de detección de la información se puede detectar la información en la avicultura de manera más eficaz. Existen una amplia gama de tecnologías y equipos de detección de información, incluidos diferentes tipos de sensores, así como algoritmos de análisis de datos, para tareas clave como la detección de objetivos, el reconocimiento del comportamiento, el monitoreo de la salud y el monitoreo ambiental en la avicultura. Además, teniendo en cuenta la situación actual de escasez de mano de obra en la industria avícola en expansión y la dirección de desarrollo de la agricultura no tripulada e inteligente, la robótica agrícola puede ser una alternativa relevante en la avicultura basada en la información.

En combinación con la inteligencia artificial (IA), la detección inteligente y la tecnología de procesamiento de señales, investigadores de todo el mundo han llevado a cabo una amplia investigación sobre la percepción de la información en la avicultura. Sobre la base de la exposición de la importancia de la percepción de la información avícola, se ha estudiado y analizado el estado de desarrollo técnico de la percepción del objetivo avícola, el reconocimiento del comportamiento, el monitoreo de la salud, el monitoreo del entorno agrícola y los robots de cría avícola en la cría de aves de corral. Además, las futuras direcciones de investigación en la tecnología de percepción de la información avícola también se han contemplado desde diversas perspectivas para abordar los problemas en diferentes tareas, lo que ayudará a estimular una mayor exploración y progreso en tecnologías relacionadas.

El marco de proceso del sistema de percepción y control en la cría avícola no tripulada moderna, que incluye principalmente tres partes: percepción de la información, procesamiento de la información, respuesta y control. Detección de información, que significa emplear sensores avanzados (sensores de contacto y sin contacto), Internet de las cosas (IoT) y algoritmos de detección de información para monitorear la información de manera precisa y automática sobre las aves de corral individuales y su entorno circundante durante el proceso de cría. Basado en sensores avanzados, IoT y algoritmos de percepción de la información, la percepción de la información aquí tiene como objetivo lograr un monitoreo preciso y automático de las aves de corral individuales y la información del entorno circundante durante el proceso de cría. La percepción de la información en la avicultura no solo es la base de la evaluación de la salud fisiológica avícola basada en la tecnología de "Intersección de la medicina y la ingeniería", sino también la garantía técnica esencial de la regulación ambiental y la gestión inteligente basada en el sistema de control ambiental y los robots, lo que tiene una importancia práctica importante para mejorar el nivel de informatización, el beneficio de la producción, bienestar avícola y seguridad de los productos.

El crecimiento económico y el desarrollo de los procesos productivos requieren apoyo tecnológico. La tecnología cambia las funciones de producción, lo que permite producir un mayor número de bienes utilizando la misma cantidad de insumos. La investigación y el desarrollo en tecnología de la información que ha llevado a acciones innovadoras, con la nueva generación de herramientas, conocidas como herramientas de agricultura de precisión, que pueden ser aplicadas en la producción avícola brasileña (Mollo y cols 2009). En este contexto, la investigación y el desarrollo se han centrado en producir innovaciones tecnológicas basadas en herramientas cada vez más especializadas que van más allá de la capacidad mental humana, y están relacionadas con la adquisición, el acceso y el procesamiento de una gran cantidad de datos. La tecnología generada hasta la fecha ha asimilado el conocimiento de los expertos, transfiriéndolo al entorno informático, proporcionando herramientas estables, consistentes, económicas y rápidas para apoyar la toma de decisiones en las granjas corporativas. Esto producirá decisiones más precisas y documentadas, basadas en conocimientos accesibles y reproducibles. No habría interferencia directa del mercado global, lo que traería beneficios a los productores, consumidores y también garantizaría el bienestar de las aves. Esta revisión también destaca el interés de los investigadores en el desarrollo de aplicaciones inteligentes para apoyar las mejores prácticas, métodos y procesos con el fin de monitorear la cadena de producción. También muestra que algunos cambios pueden afectar el proceso en su conjunto, permitiendo una rápida toma de decisiones y promoviendo un manejo preventivo y menos agresivo de las aves.

El Internet proporciona formas de obtener información sobre la producción avícola. Sin embargo, cuantos más datos haya, más difícil será determinar la forma correcta de procesarlos. Las soluciones en el mercado están dirigidas específicamente a recopilar datos, en lugar de procesarlos y analizarlos. La avicultura es uno de los campos en los que la aplicación de los principios de la Industria 4.0 se está convirtiendo en una necesidad, especialmente en el caso del control de gases de efecto invernadero. Las normas y reglas mínimas en el manejo de las aves de corral están reguladas por las Directivas de la UE y los parámetros requeridos deben garantizarse en todo momento, por lo tanto, se debe realizar un monitoreo ambiental en tiempo real. El único enfoque viable en la práctica es automatizar la recopilación de datos utilizando sensores adecuados, lo que solo es posible si se define un modelo de estructura de datos estandarizado. En esta investigación se propone el Modelo Ciber-Físico como base para el desarrollo de un sistema inteligente de gestión de granjas avícolas que sea ajustable a las necesidades particulares de producción. Se definen tres grupos de datos principales: los datos necesarios para garantizar los requisitos de las directivas de la UE, los datos de seguimiento de las granjas para el análisis y la optimización del negocio, y los datos adicionales que pueden influir en la gestión general de las granjas avícolas. El conjunto de datos propuesto se implementó en la infraestructura existente de una granja avícola del Báltico. Se instalaron múltiples sensores de CO2 (dióxido de carbono) y NH3 (amoníaco) para recopilar datos, cuyas mediciones anteriormente eran tomadas manualmente por el personal de la granja. La solución se desarrolló en un sistema centralizado de procesamiento de datos basado en la nube, donde se utilizó MQTT Broker para las medidas de seguridad. Los datos procesados son utilizados por el sistema de apoyo a la toma de decisiones con el objetivo de definir la alimentación y el alojamiento óptimos (Bumanis y cols 2022).

En las próximas décadas, se prevé que la demanda de carne de aves y huevos aumente considerablemente al ritmo del crecimiento de la población humana. Aunque esta expansión representa claramente una oportunidad notable para el sector, esconde multitud de retos. La contaminación y la erosión de la tierra, la competencia por los recursos limitados entre la nutrición animal y humana, las preocupaciones por el bienestar animal, las limitaciones en el uso de promotores del crecimiento y agentes antimicrobianos, y el aumento de los riesgos y efectos de las enfermedades infecciosas y zoonosis animales son algunos de los temas que han recibido la atención de las autoridades y el público. El aumento de la producción avícola debe lograrse principalmente a través de la optimización y el aumento de la eficiencia. La creciente capacidad de generar grandes cantidades de datos ("big data") es omnipresente tanto en la sociedad moderna como en la industria agrícola (Franzo y cols 2023). La accesibilidad a la información, junto con la disponibilidad de herramientas y la potencia computacional para almacenar, compartir, integrar y analizar datos con algoritmos automáticos y flexibles, ofrece una oportunidad sin precedentes para desarrollar herramientas que maximicen la rentabilidad de las explotaciones, reduzcan los impactos socioambientales y aumenten la salud y el bienestar animal y humano. Una descripción detallada de todos los temas y aplicaciones del análisis de big data en la avicultura sería inviable. La aplicación de tecnologías de sensores, como sensores ópticos, acústicos y portátiles, así como imágenes térmicas infrarrojas y flujo óptico, a la avicultura. También se discuten los principios y beneficios de las técnicas estadísticas avanzadas, como el aprendizaje automático y el aprendizaje profundo, y su uso en el desarrollo de modelos de clasificación y predicción efectivos y confiables para beneficiar al sistema agrícola. Por último, se discuten los avances recientes en la secuenciación y análisis del genoma de patógenos, destacando las aplicaciones prácticas en el seguimiento epidemiológico y la reconstrucción de la dinámica, evolución y propagación de las poblaciones de microorganismos. También se consideran los beneficios de la evaluación objetiva de la efectividad de las estrategias de control aplicadas. Aunque las colaboraciones entre humanos e inteligencia artificial en el sector ganadero pueden ser aterradoras porque requieren que los agricultores y los empleados del sector se adapten a nuevos roles, desafíos y competencias, y porque varias incógnitas, limitaciones y preguntas abiertas son inevitables, sus beneficios generales parecen ser mucho mayores que sus inconvenientes. A medida que más granjas y empresas se conecten a la tecnología, la inteligencia artificial (IA) y las tecnologías de detección comenzarán a desempeñar un papel más importante en la identificación de patrones y soluciones a problemas apremiantes en la ganadería moderna, proporcionando así notables ventajas comerciales y basadas en la producción. Además, la combinación de diversas fuentes y tipos de datos también será fundamental para el desarrollo de modelos predictivos capaces de anticipar, en lugar de limitarse a detectar, la aparición de

enfermedades. La creciente disponibilidad de sensores, infraestructuras y herramientas para la recopilación, el almacenamiento, el intercambio y el análisis de big data, junto con el uso de estándares abiertos y la integración con la epidemiología molecular de patógenos, tienen el potencial de abordar el gran desafío de producir alimentos de mayor calidad y más saludables a mayor escala en un entorno más sostenible.

La mortalidad en la producción de gallinas ponedoras es una preocupación para los productores y constituye una pérdida económica considerable. Algunos eventos climáticos, como las olas de calor, están directamente relacionados con el aumento de la mortalidad. El objetivo de este estudio fue relacionar la ocurrencia de olas de calor con la mortalidad de gallinas ponedoras, considerando el efecto de dos tipos diferentes de cobertizos utilizados en la producción de huevos. Los datos de mortalidad diaria se obtuvieron de dos pajareras ubicadas en la ciudad de Bastos-SP para el período de octubre de 2014 a enero de 2016. Los datos sobre el clima fueron obtenidos de dos estaciones meteorológicas ubicadas en las ciudades de Tupã-SP y Rancharia-SP, Brasil, entre 2010 y 2015. Las olas de calor se clasificaron en la base de datos climática utilizando diferentes definiciones recomendadas en la literatura (FRICH et al., 2002; INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA, 2016; ROSSATO; SARTORI; MISSIO, 2003 TEBALDI et al., 2006). Los datos de mortalidad y clima se relacionaron en una sola base de datos y se clasificaron en mortalidad normal y alta mediante minería de datos utilizando el algoritmo J48. Se pudo asociar la ocurrencia de olas de calor y el aumento de la mortalidad de las gallinas ponedoras. El árbol de clasificación generado identificó con precisión el 71% de los casos de alta mortalidad y el 95% de todos los datos de mortalidad. El árbol de clasificación permitió relacionar el aumento de la mortalidad de las ponedoras en función de las olas de calor y permite predecir cuándo habrá una mayor probabilidad de alta mortalidad (da Silva Riquena y cols 2019).

Sallabi y cols (2011) mencionan que, la documentación es un componente importante de cualquier sistema de trazabilidad en el que la trazabilidad se define en el Reglamento ISO 8402:1994 como la capacidad de rastrear el historial, la aplicación y la ubicación de lo que se está considerando. Los sistemas de trazabilidad son sistemas de mantenimiento de registros diseñados para rastrear el flujo de productos o atributos del producto a través del proceso de producción o la cadena de suministro. Todas las cadenas de suministro internacionales están obligadas a cumplir con los requisitos de trazabilidad. En este artículo, desarrollamos e implementamos un prototipo de aplicación móvil de extremo a extremo que rastrea la producción avícola. Esta aplicación consta de sistemas front-end y back-end. En el front-end, el trabajador utiliza un dispositivo portátil habilitado para GPRS (teléfono celular, PDA, etc.) para capturar información sobre las operaciones avícolas recopilada en una granja avícola remota y transmitirla a un servidor back-end en la oficina principal. A través de una aplicación personalizada, el servidor back-end analiza toda la información recibida del front-end y, basándose en un proceso de negocio y reglas de negocio incorporados, actualiza de forma inteligente a las distintas partes interesadas de cualquier incumplimiento de las medidas de bioseguridad que requiera atención inmediata. Los administradores de sistemas propuestos también pueden acceder a esta aplicación a través de Internet para la toma de decisiones de gestión. El sistema back-end consta de un servidor web, una lógica de aplicación empresarial definida y un servidor de base de datos.

Mucho se ha dicho sobre el uso potencial de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC) por parte de las agencias gubernamentales para impulsar las relaciones con las masas rurales. La experiencia demuestra que el principal reto en la construcción de la sociedad de la información es conseguir el apoyo institucional a todos los niveles. El gobierno puede paralizar o dar rienda suelta a una nueva visión para el desarrollo de las TIC. Aunque las tecnologías de la información y las comunicaciones se están difundiendo en las zonas rurales, hasta que no se reduzcan los costos de la "última milla", de los dispositivos informáticos básicos y de los programas informáticos en el idioma local, el objetivo de "cablear a la India" seguirá sin alcanzarse. La competencia de comercialización entre los agentes privados en el ámbito de las TIC está creando un terreno favorable para la difusión de las TIC en las zonas rurales de la India. Sin embargo, las soluciones tecnológicas de bajo costo por sí solas no son, por supuesto, soluciones a los problemas del desarrollo, sino que son requisitos previos para la difusión de las tecnologías de la información en las zonas rurales de la India. Las iniciativas de alfabetización electrónica son loables y tienen muchas implicaciones para la difusión de las TIC, pero la situación es en la que aún no hemos alcanzado el 100% de alfabetización básica y, por lo tanto, es necesario desarrollar

programas de formación en las zonas rurales para enseñar las habilidades básicas de mantenimiento de la infraestructura necesarias para el uso de las TIC. A pesar de todas las limitaciones, las TIC se están extendiendo a su propio ritmo y en el futuro el proceso se acelerará. Parece que en un futuro próximo habrá una plataforma sólida para la comunicación y la prestación de servicios en las zonas rurales a través de los dispositivos basados en las TIC y los servicios de valor añadido. En ese momento, los diversos sectores asociados al desarrollo rural; incluido el sector ganadero, debe proponer contenidos basados en las necesidades, específicos de la ubicación y en el idioma local en forma de programas informáticos y otros materiales electrónicos (Tiwari y cols 2010).

Esnaola-Gonzalez y cols (2020) mencionan que, como consecuencia del crecimiento previsto de la población mundial, se espera que el consumo mundial de carne aumente. Por lo tanto, es necesario mejorar la producción de carne, aunque no se puede hacer a cualquier precio. Mantener el estado de salud y bienestar de los animales en niveles óptimos ha sido tradicionalmente una de las principales preocupaciones de los ganaderos y, más recientemente, de los consumidores. En este artículo se presenta la plataforma de Gestión de la Cadena Avícola (PCM). El objetivo es recopilar datos en las diferentes fases de la cadena de producción avícola. La recopilación de estos datos no solo contribuye a determinar la calidad de cada fase y de la cadena de producción avícola en su conjunto, sino que, lo que es más importante, a identificar los problemas críticos que causan ineficiencias en los procesos y a apoyar la toma de decisiones hacia la mejora integral de la cadena de producción. Los resultados mostraron que la información recopilada puede ser aprovechada para hacer diferentes sugerencias para garantizar el bienestar de las aves y, en última instancia, mejorar la calidad de la carne.

A medida que aumenta la población mundial, la demanda de productos avícolas seguirá aumentando. Para satisfacer esta demanda, un mecanismo candidato para aumentar la producción es aumentar el alojamiento y manejar más aves. Sin embargo, esta práctica, junto con la escasez de mano de obra y el aumento de las prácticas de bioseguridad, hará que sea cada vez más difícil para los productores monitorear la producción, la salud y el estado de bienestar de todas sus aves. El empleo de sistemas inteligentes de gestión avícola es necesario para aumentar la producción y minimizar los costes y el uso de recursos. Los sistemas inteligentes de gestión avícola incluyen tecnologías de ganadería de precisión (PLF), como sensores inteligentes, automatización de procesos agrícolas y plataformas de toma de decisiones basadas en datos. Muchas de las nuevas tecnologías tendrán grandes implicaciones para la producción avícola en las áreas del entorno de las naves avícolas, el bienestar de las aves, la alimentación de precisión y la detección rápida de enfermedades infecciosas. A medida que los sensores inteligentes recopilan datos en tiempo real sobre una variedad de parámetros de las operaciones avícolas, se generarán grandes cantidades de datos. Para hacer el mejor uso de estos datos, se deben emplear herramientas analíticas de big data para producir decisiones basadas en datos. Además, los dispositivos que se incorporarán a los sistemas inteligentes de gestión avícola estarán conectados a Internet, lo que permitirá la formación de redes de granjas de Internet de las cosas (IoT). Las tecnologías de IoT permiten la comunicación entre los sensores, dispositivos y equipos de la granja, y conducirán a la automatización de múltiples procedimientos de la granja. La siguiente revisión analiza las áreas de impacto que las nuevas tecnologías de sensores inteligentes tendrán en las operaciones avícolas y describe cómo la tecnología de sensores se relaciona con el análisis de big data y los sistemas de IoT, y cómo estas tecnologías pueden mejorar la producción en la industria avícola. Además, también se destacarán y discutirán los desafíos de los sistemas y tecnologías descritos (Astill y cols 2020).

La avicultura es una importante industria mundial, que produce más de 120 millones de toneladas de carne de pollo, pavo, pato y otras aves al año. Sin embargo, la naturaleza intensiva de la producción avícola moderna plantea desafíos en torno al bienestar animal, el impacto ambiental y la sostenibilidad económica. Las prácticas actuales utilizan la regulación ambiental básica, la alimentación y el monitoreo de la salud. Sin embargo, esto conduce a inconsistencias en las condiciones de crecimiento y la salud del lote. Los sistemas inteligentes ofrecen un seguimiento en tiempo real para ajustar automáticamente la temperatura, la iluminación, la ventilación y la alimentación (George y Hovan George 2023). Los sensores monitorean la calidad del aire, el movimiento, las vocalizaciones y otros factores para evaluar la salud y el bienestar de las aves. La visión artificial y la IA pueden detectar lesiones, enfermedades y problemas de comportamiento para una intervención temprana. Los procesos automatizados de avicultura mejorarán la estandarización. Todas las aves de un lote experimentan condiciones uniformes adaptadas a sus necesidades a medida que crecen. Los planes de alimentación algorítmicos

proporcionan dietas nutricionalmente óptimas. El control de clima mantiene las temperaturas y la calidad del aire ideales. Los datos sólidos permiten una mejor toma de decisiones con respecto a la atención veterinaria, la densidad de población, la bioseguridad y los programas de procesamiento. El resultado son aves consistentemente más sanas, tasas de crecimiento más rápidas y menor mortalidad. La automatización inteligente también beneficia a la sostenibilidad. Las técnicas de agricultura de precisión optimizan el uso de energía y agua. La producción total de residuos se puede minimizar alineando el alimento con el crecimiento. La visión artificial puede mejorar la calidad del producto y reducir el desperdicio de procesamiento. Las tasas de enfermedad más bajas reducen el uso de productos farmacéuticos. La viabilidad económica de la avicultura se ve reforzada por estas eficiencias. La implementación de sistemas avanzados requiere costos de infraestructura iniciales, incluida la instalación de sensores, controladores y software de análisis. Sin embargo, los beneficios a largo plazo superan la inversión. La productividad general aumenta mientras que la mano de obra, los servicios públicos y los gastos de inventario disminuyen. La rentabilidad mejora a pesar del mayor gasto en tecnología. Los trabajadores pueden centrarse en la supervisión y la toma de decisiones complejas en lugar de en las tareas manuales. Con una gestión adecuada del cambio, las granjas pueden integrar sin problemas nuevas soluciones. En resumen, la aplicación de tecnología inteligente a la producción avícola optimiza el bienestar, la sostenibilidad y la economía. El monitoreo inteligente proporciona una visión sin precedentes de la salud y el comportamiento del lote, lo que permite realizar ajustes automatizados con capacidad de respuesta. A medida que esta tecnología madura, la industria avícola puede alcanzar nuevos niveles de eficiencia. La investigación adicional puede refinar los algoritmos y explorar aplicaciones innovadoras para impulsar el progreso continuo.

La consideración del bienestar animal es esencial para satisfacer las demandas de los consumidores y para la sostenibilidad a largo plazo de las aves de corral comerciales, como comentan Sassi y cols (2016). Sin embargo, es difícil evaluar el bienestar en grandes lotes de aves de corral para poder detectar posibles riesgos para el bienestar y controlar o minimizar su impacto. Los desarrollos actuales en tecnología y modelos matemáticos abren nuevas posibilidades para el monitoreo automático en tiempo real del bienestar y la salud de los animales. Están apareciendo nuevas innovaciones tecnológicas potencialmente adaptables a la avicultura comercial, aunque su implementación práctica aún está en fase de definición. En este trabajo, revisamos los últimos desarrollos tecnológicos con potencial para ser aplicados al bienestar de las aves, especialmente para pollos de engorde y gallinas ponedoras. Algunos de los ejemplos que se presentan y discuten incluyen los siguientes: sensores para el monitoreo ambiental de la granja, el movimiento o los parámetros fisiológicos; tecnologías de imagen, como el flujo óptico para detectar problemas de marcha y picoteo de plumas; Tecnologías infrarrojas para evaluar las características termorreguladoras de las aves y los cambios en el metabolismo, que pueden ser indicativos de problemas de bienestar, salud y manejo. Todas estas tecnologías tienen el potencial de ser implementadas a nivel comercial para mejorar el bienestar de las aves y optimizar el manejo de la parvada, mejorando así la eficiencia del sistema en términos de uso de recursos y, por lo tanto, la sostenibilidad a largo plazo.

Si bien la literatura académica afirma ampliamente que las enfermedades de la producción tienen un impacto financiero significativo en la producción avícola, estas afirmaciones rara vez están respaldadas por evidencia empírica. Por lo tanto, existe el riesgo de que no se satisfagan adecuadamente las necesidades de información de los productores avícolas en relación con los costos asociados a determinadas enfermedades, tal como lo informan Jomes y cols (2018). Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura sobre las enfermedades de la producción avícola, en primer lugar, para determinar la disponibilidad de estudios que estiman los impactos financieros de las enfermedades de la producción en los sistemas avícolas y, en segundo lugar, sobre la base de estos estudios, se generaron estimaciones de la magnitud de estos impactos. Se examinaron nueve enfermedades de la producción, seleccionadas por un grupo de partes interesadas como de importancia económica en la UE. La revisión encontró que la literatura sobre enfermedades de las aves de corral tiene un enfoque principalmente epidemiológico, con muy pocas publicaciones que proporcionen estimaciones de los impactos financieros de las enfermedades. Sin embargo, algunas publicaciones han cuantificado los impactos físicos de las enfermedades de la producción y las intervenciones de control, por ejemplo, utilizando medidas como los volúmenes de producción, las tasas de mortalidad y los recuentos bacterianos. Utilizando estos datos en modelos financieros estándar, fue posible realizar análisis financieros parciales para algunas enfermedades de la producción avícola. Se encontró

que la coccidiosis y la clostridiosis son las enfermedades de producción más comunes en las parvadas de pollos de engorde, siendo la salpingoperitonitis la más común en las ponedoras. Si bien el impacto financiero de las enfermedades no tratadas varió, se estimó que la mayoría de las enfermedades no controladas causaban pérdidas en los rebaños. Sin embargo, en todos los casos se dispuso de intervenciones que redujeron significativamente estas pérdidas. La revisión refuerza la preocupación de que la literatura académica disponible no proporciona suficiente información para que los productores avícolas decidan sobre las medidas de prevención y tratamiento de enfermedades financieramente óptimas.

La creciente población mundial depende en gran medida de la ganadería. Los productos de origen animal proporcionan comidas llenas de nutrientes que ayudan a mantener a las personas de todas las edades en comunidades de todo el mundo. A medida que crece la demanda humana de proteínas animales, la industria avícola debe seguir mejorando su eficiencia y calidad de producción. Uno de los animales de cría más comunes es el de las aves y su importancia se siente a escala mundial. Las prácticas actuales de la avicultura provocan la muerte prematura y el rechazo de miles de millones de pollos anualmente antes de que se procesen para obtener carne. Esta pérdida de vidas es preocupante en cuanto al bienestar animal, la eficiencia agrícola y los impactos económicos. La mejor manera de prevenir estas pérdidas es a través de la evaluación individualista y/o grupal de los animales de forma continua. En las explotaciones a gran escala, esta atención a los detalles se consideraba generalmente inexacta e ineficiente, pero con la integración de la tecnología asistida por inteligencia artificial (IA) individualizada, las evaluaciones del ganado por rebaño se hicieron posibles y precisas. Varios estudios han demostrado que las cámaras conectadas con sistemas especializados de IA pueden analizar adecuadamente las parvadas en busca de problemas de salud, mejorando así la tasa de supervivencia y la calidad del producto de las aves de corral. Sobre la base de los avances recientes, esta revisión explora los aspectos de la IA en la detección, el recuento y el seguimiento de aves de corral en aplicaciones comerciales y basadas en la investigación (Neethirajan 2021).

Con la creciente disponibilidad de grandes cantidades de datos en el ámbito de la avicultura, nos enfrentamos al reto de almacenar, combinar y analizar estos datos de forma eficiente. Shokker y cols (2020) reportan que, con este estudio, se explora el uso de un lago de datos para almacenar y analizar datos con el fin de mejorar la escalabilidad y la interoperabilidad. Los datos se originaron a partir de un experimento con animales de 2 días en el que se determinó la puntuación de la marcha de aproximadamente 200 pavos a través de una inspección visual por parte de un experto. Además, se instalaron unidades de medición inercial (IMU), una cámara de vídeo 3D y una placa de fuerza (FP) para explorar la eficacia de estos sensores en la automatización de la puntuación visual de la marcha. Desplegamos un lago de datos utilizando los datos de IMU y FP de un solo día de ese experimento con animales. Esto abarca los datos de 84 pavos para los que preprocesamos mediante la realización de un procedimiento de "extracción, transformación y carga" (ETL-). Para probar la escalabilidad del procedimiento ETL, simulamos volúmenes crecientes de los datos disponibles de este experimento con animales y calculamos el "tiempo de pared" (tiempo real transcurrido) para convertir los datos de FP en archivos separados por comas y almacenar estos archivos. Con un conjunto de datos simulado de 30 000 pavos, el tiempo de pared se redujo de 1 h a menos de 15 min, cuando se utilizaron 12 núcleos en comparación con 1 núcleo. Esto demostró que el procedimiento ETL es escalable. Posteriormente, se desarrolló una canalización de aprendizaje automático (ML) para probar el potencial de un lago de datos para distinguir automáticamente entre dos clases, es decir, puntuaciones de marcha muy malas frente a otras puntuaciones. En conclusión, hemos creado un lago de datos personalizado dedicado, hemos cargado datos y hemos desarrollado un modelo de predicción mediante la creación de una canalización de ML. Un lago de datos parece ser una herramienta útil para afrontar el reto de almacenar, combinar y analizar volúmenes crecientes de datos de diversa naturaleza de forma eficaz.

Los modelos se utilizan ampliamente como herramientas para comprender y predecir las respuestas de las aves de corral a los cambios en la nutrición, la genética y el medio ambiente. Sin embargo, los algoritmos de aprendizaje automático impulsados por los flujos emergentes de Big Data están ganando atención debido a su poder de pronóstico y su capacidad para hacer frente a problemas complejos y multidimensionales y a nuevos tipos de datos. Los modelos híbridos podrían aplicarse a muchas áreas emergentes del sector avícola, como la alimentación de precisión. Dentro de los sistemas de producción avícola, los modelos han proporcionado un apoyo vital a la

toma de decisiones, análisis de oportunidades y capacidades de optimización del rendimiento a nutricionistas y productores durante décadas. En los últimos años, debido al avance de las tecnologías digitales y de sensores, han surgido flujos de 'Big Data', posicionados de manera óptima para ser analizados por enfoques de modelado de aprendizaje automático (ML), con fortalezas en el pronóstico y la predicción. Esta revisión explora la evolución de los modelos empíricos y mecanicistas en los sistemas de producción avícola, y cómo estos modelos pueden interactuar con las nuevas herramientas y tecnologías digitales. Esta revisión también examinará la aparición de ML y Big Data en el sector de la producción avícola, y la aparición de la alimentación de precisión y la automatización de los sistemas de producción avícola. Hay varias direcciones prometedoras para el campo, que incluyen: (1) la aplicación de análisis de Big Data (por ejemplo, tecnologías basadas en sensores, sistemas de alimentación de precisión) y metodologías de ML (por ejemplo, algoritmos de aprendizaje supervisado y no supervisado) para alimentar con mayor precisión los objetivos de producción dado un animal individual "conocido", y (2) la combinación e hibridación de enfoques de modelado mecanicistas y basados en datos para unir el apoyo a la toma de decisiones con capacidades de pronóstico mejorada (Leishman y cols 2023).
Las vocalizaciones de los animales de granja pueden acompañar estados particulares del estado de ánimo o la emoción de los animales. A partir de estas vocalizaciones, podemos juzgar las necesidades actuales y el deterioro del bienestar de los animales, por lo que pueden considerarse indicadores del estado de bienestar de los animales. Sin embargo, el ruido producido por los diferentes sistemas mecánicos en el gallinero comercial puede interferir con la detección de la vocalización de las gallinas ponedoras. El propósito de este estudio es analizar y clasificar las vocalizaciones de gallinas ponedoras y los ruidos mecánicos. El análisis y la clasificación se basan en las características de la señal en el dominio del tiempo y en el dominio de la frecuencia. La vocalización en el proceso de puesta de huevos y el canto son dos tipos de vocalizaciones típicas de las gallinas ponedoras. Las fuentes mecánicas de ruido en la granja incluyen principalmente el sistema de ventilación, los sistemas de eliminación de estiércol, los sistemas de recolección de huevos y los sistemas de alimentación. La densidad espectral de potencia y la relación de potencia de subbanda de las vocalizaciones y ruidos mecánicos de las gallinas ponedoras se extrajeron mediante el uso de un sistema de análisis de sonido basado en el entorno de desarrollo del programa LabVIEW. Se utilizó un algoritmo de árbol de decisión J48 para clasificar e identificar la vocalización y el ruido mecánico de las gallinas ponedoras en la plataforma de minería de datos Weka. Los resultados mostraron que los rangos de frecuencia de vocalización asociados con el proceso de puesta de huevos y el canto se distribuyeron principalmente dentro de 400-2 500 Hz, los rangos de frecuencia de ruido del sistema de ventilación y ruido del sistema de alimentación se distribuyeron principalmente por debajo de 1 500 Hz, los rangos de frecuencia de ruido del sistema de eliminación de estiércol y ruido del sistema de recolección de huevos se ubicaron dentro de 100-3 000 Hz. que era más amplio que los rangos de frecuencia de otros sonidos. Las relaciones de potencia máxima de vocalización en el proceso de puesta de huevos y canto fueron de (83,4±9,9)% y (76,7±18,8)%, que estuvieron dentro del rango de frecuencia >689-1 378 Hz;. Las relaciones de potencia de la vocalización en el proceso de puesta de huevos y el canto fueron mayores que las de los ruidos mecánicos en el rango de frecuencias >689-1 378 Hz. Las relaciones de potencia máximas del ruido del sistema de ventilación y del sistema de alimentación fueron del 68,1±2,1% y del 74,5±9,7%, respectivamente, que se situaron dentro del rango de frecuencias de 0 a 689 Hz. Las relaciones de potencia del ruido del sistema de ventilación y del sistema de alimentación fueron superiores a las de otros en la gama de frecuencias de 0 a 689 Hz. La relación de potencia entre el ruido del sistema de eliminación de estiércol y el sistema de recolección de huevos fue relativamente uniforme; las relaciones de potencia máximas fueron de solo 37,2±4,1% y 40,9±3,4%, respectivamente, y se encontraban dentro del rango de frecuencia >1 378-2 756 Hz. Las relaciones de potencia del ruido del sistema de recogida de estiércol y del sistema de recogida de huevos fueron superiores a las de otros en la gama de frecuencias >1 378-2 756 Hz. El modelo de reconocimiento de sonido basado en la relación de potencia de subbanda tuvo una tasa media de clasificación correcta del 93,4%. Además, el 92,5% de las vocalizaciones asociadas con el proceso de puesta de huevos y el 85,9% de los cantos se identificaron correctamente, y las proporciones de clasificación correctas del sistema de ventilación, el sistema de alimentación, el sistema de eliminación de estiércol y el ruido del sistema de recolección de huevos fueron del 97,7%, 96,2%, 97,8% y 94,4%, que fueron superiores a las vocalizaciones de las gallinas ponedoras. Este método, basado en relaciones de potencia de subbanda, reconoce y discrimina eficazmente el

ruido de diferentes fuentes, lo que puede proporcionar una referencia para detectar vocalizaciones de animales dentro del complejo entorno de ruido en la granja comercial (Yangfei y col 2017).

8) Limitaciones y Barreras a la Adopción de Tecnologías de Big Data e información:

La avicultura ha cambiado significativamente en muchos países durante las últimas cinco décadas. Así, a mediados de los años 50, las explotaciones pequeñas y no especializadas de los países europeos y norteamericanos criaban aves principalmente para satisfacer las necesidades familiares. La producción porcina y avícola se hizo más intensiva en los años 70, lo que llevó a una reducción en el número de granjas, pero estas tenían un mayor número de aves, Aunque estas tendían a criarse en sistemas de producción extensivos, su producción sufrió cambios similares. Si bien esta transformación de la industria avícola observada en algunos países tomó varias décadas, ahora es mucho más rápida en los países que desarrollan esta industria en la actualidad. La presión económica aumenta progresivamente para los avicultores de hoy en día que tienen que enfrentarse a muchos nuevos retos. Estos desafíos incluyen la adaptación continua a las incertidumbres de las reglas del comercio internacional, la reducción gradual del apoyo gubernamental, una sociedad que aumenta sus estándares ambientales y de bienestar animal, el aumento continuo de los costos de alimentación y producción, y una disminución en la disponibilidad de proteína vegetal para la alimentación de las aves. También debe adaptarse en muchos países a nuevas realidades como la reducción de la mano de obra, una mano de obra que busca unas condiciones laborales más adaptadas a sus capacidades y valores de conciliación familia-trabajo, y otras realidades emergentes como la reducción de las emisiones globales de gases de efecto invernadero. Las explotaciones avícolas deben crecer e intensificarse para seguir siendo rentables y permitir a los productores mantener sus medios de vida. La adopción de nuevas tecnologías se percibe hoy en día como una vía prometedora, quizás la única que permitirá el desarrollo de sistemas de producción avícola sostenibles que respeten los más altos estándares sociales ambientales y de bienestar animal, al tiempo que permitan la conciliación de las aspiraciones económicas y familiares de los empresarios avícolas.

La avicultura de precisión (APR), o avicultura inteligente, se refiere a la gestión del ganado utilizando los principios y tecnologías de la ingeniería de procesos (Berckmans, 2017), donde los sensores y dispositivos inteligentes interconectados, el análisis de big data y los modelos matemáticos y de inteligencia artificial convencionales proporcionan una nueva ventaja para la innovación y la productividad (Ellis y cols 2020). La intensificación de la utilización de las nuevas tecnologías en la comunicación (por ejemplo, Internet, Internet de las cosas, computación en la nube, etc.) está fomentando el desarrollo de APR. La integración de los conocimientos actuales de la zootecnia en las tecnologías de la información y la comunicación es la base para el desarrollo del APR. El monitoreo continuo y automático de los animales puede apoyar a los ganaderos en el manejo de sus operaciones con estrategias óptimas de alimentación, el control de la tasa de crecimiento y el manejo de la salud. Sin embargo, el objetivo principal del APR es mejorar la rentabilidad general de la granja y el bienestar animal, junto con la eficiencia de la producción y la sostenibilidad (Banhazi y cols 2012). La avicultura de precisión incorpora todos los componentes necesarios (por ejemplo, básculas automáticas, identificación de animales, sistemas de seguimiento, análisis de sonido, etc.) para lograr el resultado esperado del control de APR.

Aunque la alimentación de precisión y la nutrición de precisión (NP) pueden tener diferentes significados para algunos autores, refiriéndose al uso de técnicas de alimentación que permiten suministrar de manera oportuna la cantidad adecuada de alimento con la composición adecuada a un grupo de animales o a animales individuales dentro de un grupo. El impacto potencial de la NP en la rentabilidad avícola ha quedado ampliamente demostrado. De hecho, la alimentación es el componente de costo más importante en muchas operaciones ganaderas y en los sistemas comerciales de producción porcina de engorde y engorde, y representa entre el 60% y el 70% de los costos totales de producción. También se observan resultados similares en aves y otros animales, principalmente monogástricos. Por otro lado, la eficiencia con la que los animales transforman los nutrientes de la dieta en productos de origen animal es generalmente baja. Dado que los nutrientes que no son retenidos por el animal o en los productos de origen animal se excretan a través de la orina, las heces o en forma de calor, mejorar la eficiencia de la utilización de nutrientes puede reducir significativamente la huella ambiental de los sistemas de producción animal al tiempo que reduce los costos de producción.

La aplicación práctica de la NP puede tener un gran impacto en la sostenibilidad de la avicultura, especialmente cuando se aplica a nivel de lotes uniformes de una edad fisiológica. La nutrición de precisión es probablemente la vía más prometedora para reducir la huella ambiental de los sistemas de producción tanto en avicultura como en porcicultura), incluidas las emisiones de gases de efecto invernadero. Las ventajas del uso de NP se han descrito ampliamente, y para los cerdos en crecimiento, por ejemplo, alimentar a los cerdos individualmente con dietas diarias adaptadas puede ayudar a los ganaderos a producir la misma cantidad de carne, pero reducir las provisiones de lisina en un 25%, los costos de alimentación en un 8%, la excreción de nitrógeno y fósforo en casi un 40% y las emisiones de gases de efecto invernadero entre el 6% y más del 24%. Los alimentos balanceados en sí mismos representan el 70% del impacto ambiental de la producción porcina y avícola. Sin embargo, a pesar de los beneficios tangibles que la NP ofrece a los productores, pocos sistemas se han implementado con éxito hasta ahora (Ellis y cols 2020). Existen varios desafíos para la adopción generalizada de la NP en los sistemas de producción avícola. Además de los desafíos económicos y logísticos, existen limitaciones conceptuales y escollos que los desarrolladores deben evitar para proporcionar a los agricultores aplicaciones de NP eficientes y confiables.

Hoy en día se pueden recopilar datos masivos y de alto rendimiento en las aves, los alimentos terminados, los edificios y otros niveles de la granja gracias al desarrollo de tecnologías informáticas, de comunicación y de sensores avanzadas. Más allá de la disponibilidad de estas tecnologías, se deben utilizar principios rectores para elegir la información más apropiada y relevante a recopilar para el funcionamiento óptimo de las aplicaciones de NP. En el contexto de la recolección automática de datos para NP, (a) identificar los factores (es decir, estrategias de control) que cuantitativamente tienen un impacto importante en la determinación de la respuesta del animal o de la población al suministro de nutrientes, y (b) para cada uno de estos factores, determinar las medidas que deben realizarse a nivel de explotación o animal para garantizar el correcto funcionamiento de la aplicación de la NP. Estos factores pueden incluir la restricción del alimento o la modulación de las provisiones de nutrientes. Cuando la estrategia de control es la composición nutricional de los alimentos balanceados suministrados a las aves, estas mediciones deben estar relacionadas con la evaluación precisa de la composición nutricional de los alimentos terminados, las condiciones ambientales de la explotación y las mediciones de las aves necesarias para la determinación en tiempo real de las necesidades de nutrientes. Es importante en este momento que las personas involucradas en el desarrollo de sistemas de NP, así como aquellas involucradas en el desarrollo de cualquier componente de APR, eviten la tentación de buscar cómo utilizar las tecnologías disponibles como los sensores y en su lugar se centren en identificar los factores y la información que se necesitan para establecer estrategias de alimentación óptimas.

Por lo que las limitaciones a avicultura de precisión se producen porque es difícil vincular los estados del entorno con los resultados futuros y las acciones necesarias para lograr resultados favorables bajo la influencia de las presiones de selección. El impacto es siempre que la perfección es imposible y bajo diferentes presiones de selección hay compensaciones con respecto a los diferentes componentes de la aptitud. El primer problema es combinatorio. El número de posibles estados del entorno, resultados y las relaciones entre ellos es enorme y en cada interacción, estos deben ser reducidos por un IE a una sola acción (incluida la posibilidad de inacción). La base para superar este problema es proporcionar las características fundamentales de la información: los símbolos y los medios para asociarlos de diferentes maneras. El segundo problema es cómo hacer las compensaciones entre las medidas de información (como la producción de huevo y consumo de alimento balanceado necesarias para respaldar resultados favorables. Este problema se divide en varios subproblemas: a) ¿Qué propiedades medir en el medio ambiente y con qué calidad?, b) ¿Cómo superar las complejidades involucradas en la interpretación, la inferencia y la instrucción, cómo desarrollar atajos en la provisión de los datos productivos requeridos requerida?, c) ¿Cómo superar la contención en diferentes niveles: entre diferentes medidas de información, entre las necesidades del presente y las necesidades del futuro, entre las necesidades de diferentes tipos de interacción, entre diferentes sitios de producción (especialmente en los límites de los ecosistemas) y cómo mantener la calidad de datos e información alineada con la aptitud incluso cuando cambian los requisitos del entorno?, d) ¿Cómo desafiar el nivel de calidad alcanzado, cómo la minería de datos puede solucionar las diferencias entre sitios de producción o lotes de diferentes genéticas. El último problema es arquitectónico en donde, a) ¿qué patrón de

componentes es mejor y cómo debería cambiar con el tiempo? Las formas en que se resuelven estos problemas en diferentes sitios de producción determinan las convenciones de los ecosistemas y los mecanismos de selección detallados que se aplican.

La sobrecarga de datos e información ha sido muy discutida, pero esto no es más que un síntoma de un problema más profundo: hay un número inimaginablemente grande de estados potenciales medibles, resultados potenciales y conexiones entre ellos. Un estado de entorno o, de hecho, cualquier segmento, incluso si se mide con una calidad relativamente baja, no es fácil de manipular y procesar: hay un número (potencialmente grande) de propiedades y sus valores para tener en cuenta. Por lo tanto, hay un gran ahorro de procesamiento y una reducción de la fricción y el ritmo si se utiliza un identificador simple, asociado con el segmento informativo, en su lugar. Si el identificador está conectado, de alguna manera, con el sector y está claro lo que significa el identificador (por referencia a las propiedades del sector, según sea necesario), el procesamiento se simplificará enormemente. Por lo tanto, no es sorprendente que los identificadores estén muy extendidos en el almacenamiento y procesamiento de información en forma de símbolos o conjuntos de símbolos. La naturaleza del símbolo no es relevante y el hecho de que los símbolos puedan ser arbitrarios es un principio fundamental de la semiótica. Lo que importa es que el símbolo se pueda conectar, según sea necesario, a la porción a la que está conectado y que se pueda discriminar de otros símbolos. Tener en cuenta que el requisito de que los símbolos puedan ser fácilmente discriminados presagia uno de los beneficios del mundo digital.

Las tecnologías digitales permiten que los datos y la información estén disponibles en momentos y lugares muy diferentes y en muchos dispositivos diferentes. Una estrategia para abordar el problema combinatorio es aumentar la potencia de procesamiento y esto es precisamente lo que la ley de Moore ha previsto para el aprendizaje automático, que, combinado con el acceso al acceso a grandes volúmenes de datos, los llamados "big data"). Este aumento de la potencia y el acceso a los datos ha sido uno de los impulsores del auge actual de la inteligencia artificial, pero aún está a una distancia considerable de resolver el problema combinatorio, incluso al margen de las otras dificultades que se describen a continuación.

Como se discutió anteriormente, son posibles diferentes estrategias para el procesamiento de datos e información dependiendo del grado en que se priorice cada una de las cualidades, el ritmo o la fricción en términos de aptitud estrecha. Un proceso riguroso centrado en la calidad requiere un enfoque como el de la ciencia. Pero es posible que los procesos de una granja o un sitio de producción avícola, en su lugar, se basan en reglas que explotan las regularidades del entorno productivo. Sin inferencia, no hay acción. Puede haber dificultades asociadas con la explotación de estas regularidades tanto para las personas como para las máquinas. Como señala Kahneman (2011) con respecto a nuestras respuestas innatas y subconscientes (lo que él llama Sistema 1): "El Sistema 1 es radicalmente insensible tanto a la calidad como a la cantidad de información que da lugar a impresiones e intuiciones". Como dice Duffy (2018) "cuanto más común es un problema, más probable es que lo aceptemos como la norma".

El aprendizaje automático encuentra y explota algunas de estas regularidades, pero ha estado sujeto a algunos problemas bien publicitados asociados con el sesgo, aunque los sesgos revelados han sido, en algunos casos, menores de lo que las personas muestran. La naturaleza de las regularidades se discute en el que la inferencia se clasifica en términos de: a) inferencia de contenido, utilizando solo las reglas asociadas con una herramienta de modelado particular, por ejemplo, lógica formal o matemática, b) causalidad, en la que la inferencia se basa en uno o más procesos de causalidad y c) similitud, en la que la inferencia se basa en la similitud entre conjuntos de cortes y la suposición de que la similitud se extenderá. El aprendizaje automático se basa en la similitud, por lo que esta categorización plantea una pregunta. ¿Para qué tipos de procesamiento de la información es el aprendizaje automático la técnica más adecuada y cuándo son apropiadas otras técnicas? En particular, ¿cuándo es más apropiada la simulación que se ocupa de modelar la causalidad? El procesamiento de contenido tiene claros beneficios en términos de fricción y ritmo: hacer que la conexión con los eventos incurra en una fricción mucho mayor, esta es la relación entre la física teórica y la física experimental. Wittgenstein (1978) también se refirió a esta idea y a la relación entre el contenido y los acontecimientos con respecto a las matemáticas: a) "Es esencial para las matemáticas que sus signos también se empleen en muftí"; b) "Es el uso fuera de las matemáticas, y por lo tanto el significado de los signos, lo que convierte el juego de signos en matemáticas".

Un atajo igualmente insidioso es el colapso de la salida. Existen incertidumbres sobre la interpretación, la inferencia y la instrucción causadas por las limitaciones de la calidad de los datos y la información. Sin embargo, una interacción da como resultado una sola acción por parte de una inferencia donde esto incluye la posibilidad de ninguna acción en absoluto) y el examen de una gama de posibles resultados y acciones aumenta la fricción. Por lo tanto, en muchos casos, la interpretación y la inferencia están diseñadas para producir una sola respuesta y la distribución potencialmente compleja de posibilidades colapsa a un solo resultado. Si este colapso se produce al final del procesamiento, es posible que no perjudique la calidad. Sin embargo, si ocurre en varias etapas durante el procesamiento, es probable que así sea. Hay otro tipo de atajo. Se trata de una calidad por delegación en la que la calidad se evalúa en función de la fuente de la información que está vinculada a la autoridad, la marca, la reputación, la conformidad con un modelo de datos u otras características.

Las empresas avícolas utilizan reglas denominadas reglas de negocio de forma rutinaria. Los procesos de negocio encarnan estas reglas de negocio en dos sentidos. A gran escala, un proceso define las reglas por las que una empresa pretende llevar a cabo una actividad. Además, en un sentido más detallado, las reglas de negocio capturan cómo llevar a cabo pasos concretos. El aprendizaje automático puede mejorar ambos aspectos. En el primer caso, el contexto del proceso puede cambiar el siguiente paso apropiado. Por lo tanto, en lugar de un conjunto fijo de pasos como se captura en un mapa de procesos, el proceso puede convertirse en una mezcla de pasos fijos y algo parecido a una máquina de estados o, en algunos casos, simplemente una máquina de estados. Este cambio se basa en un conocimiento continuo de la situación que puede usar el aprendizaje automático como herramienta de medición. Además, el aprendizaje automático también puede refinar las reglas de negocio a lo largo del tiempo en función de la relación en desarrollo entre las reglas y los objetivos de aptitud. Puede ser apropiado cambiar las reglas, como cuando se cambian las preguntas a hacer en alguna situación dada o hasta cuando se obtenga más información sobre la efectividad de las reglas o sea posible ajustar las reglas más específicamente a ejemplos individuales.

Se requieren algoritmos más sofisticados y enfoques híbridos, es decir, que combinen bases de datos supervisados y no supervisados para lograr una alta precisión y eficiencia. El auto entrenamiento puede reducir el problema de sobreajuste y el aprendizaje por refuerzo o la supervisión a distancia pueden funcionar mejor con pequeños conjuntos de datos etiquetados. De acuerdo con la variedad y el volumen de big data, aún es necesario responder a muchas preguntas mediante el aprendizaje profundo, como que más recursos de información aumentarán los conflictos en datos e información relevante. Por lo tanto, la resolución de conflictos se volvió importante. Cómo manejar la puntualidad y la distribución de los datos, el impacto de las modalidades ampliadas en el rendimiento, el equilibrio entre la información, la representatividad y la diversidad, el modelado del rendimiento en el caso de datos heterogéneos, dimensionales, dispersos y desequilibrados, y la estructuración de los datos son los problemas desafiantes de la extracción de la información a partir de conjuntos de datos no estructurados a gran escala. Se pueden resumir las limitaciones de la extracción de información de grandes bases de datos en; a) problemas de big data no estructurados (ruidos, calidad de datos, diversidad de datos, dimensiones de datos, dispersión de datos y modelaje de datos) y b) Usabilidad de datos no estructurados (variación de perspectiva, ambigüedades de los datos, comprensión semántica, comprensión del contexto, relevancia desde la perspectiva del usuario).

9) Oportunidades:

Una plataforma de recopilación de datos totalmente automatizada que permite la avicultura moderna de precisión se caracteriza no solo por el aumento de la cantidad de datos, sino también por la naturaleza compleja y dinámica de su recopilación en tiempo real. Con el apoyo de tecnologías intensivas en datos, se puede monitorear a las aves ya sea en casetas de jaulas o piso continuamente durante la producción, y esta información se puede utilizarse para mejorar la salud, el bienestar, el rendimiento y la carga ambiental. Hoy en día, la comunidad de la ciencia animal a menudo carece de la infraestructura y las herramientas para hacer un uso completo de estos nuevos tipos de datos. Cuando se combina con información molecular, como la genómica, la transcriptómica y la microbiota de cada animal, las nuevas técnicas de aprendizaje automático y minería de datos pueden avanzar en la implementación de la avicultura de precisión para extraer información crítica y predecir

observaciones futuras a partir de big data. Para abordar estas brechas de conocimiento, la disponibilidad de herramientas de minería de datos y aprendizaje automático para analizar big data, requiere de un su marco estadístico o de modelaje que permita coincidir con la realidad. La infraestructura cibernética para alojar, proteger y compartir datos también se puede utilizar para explotar big data. Se espera que el análisis predictivo de big data sea cada vez más común en todas las disciplinas de la ciencia animal. Sostenemos que los primeros pasos a lo largo de este camino implican comprender las ventajas y desventajas de estas herramientas cuando se aplican a dominios específicos de la ciencia animal. Además, la estrecha colaboración entre campos transdisciplinarios con antecedentes complementarios, como la informática, la economía, la ingeniería, las matemáticas y la estadística, junto con la industria, es indispensable para desarrollar de manera eficiente enfoques de vanguardia para analizar datos heterogéneos y de alto rendimiento. El modelado predictivo es a menudo más relevante que hacer inferencias sobre el mecanismo de generación de datos en escenarios prácticos. La avicultura de precisión permite a los empresarios avícolas formular prácticas de gestión rápidas, y un enfoque predictivo de aprendizaje automático para la avicultura basada en big data puede resultar invaluable para abordar los desafíos que se avecinan en las ciencias animales.

10) Literatura Revisada:

Astill, J., R.A. Dara, E.D.G. Frazer, B. Roberts y S. Sharif, 2020, Smart poultry management: Smart sensors, big data, and the internet of things, Computers and Electronics in Agriculture 170: 105291.

Banhazi, T.M., H. Lehr, J.L. Black, H. Crabtree, P. Schofield, M. Tscharke y D. Berckmans, 2012, Precision Livestock Farming: An international review of scientific and commercial aspects, International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 5: 1-9.

Berckmans, D., 2017, General introduction to precision livestock farming, Animal Frontiers, 7(1): 6–11.

Bumanisa, N., I. Arhipova, L. Paura, G. Vitolsa y L. Jankovska, 2022, Data Conceptual Model for Smart Poultry Farm Management System, Procedia Computer Science 200: 517–526.

Cameron, W.B., 1963, Informal Sociology: A Casual Introduction to Sociological Thinking, Random House, New York City, NY, USA.

Çelik, S., S. Turgay, I. Hakan, S. Bunyamin, A. YUSUF SENGÜL, K. Çigdem y A. Tugay, 2017, Estimation of egg weight from some external and internal quality characteristics in quail by using various data mining algorithms, Indian Journal of Animal Sciences 87(12): 1524–1530.

Cronin, G.M., S.S. Borg y M.T. Dunn, 2008, Using video image analysis to count hens in cages and reduce egg breakage on collection belts, Australian Journal of Experimental Agriculture 48(7): 768-772.

da Silva Riquena, R., D.F. Pereira, M. Martinez do Vale y D. D'Alessandro Salgado, 2019, Mortality prediction of laying hens due to heat waves, Revista Ciência Agronômica 50(1): 18-26.

Duffy, B., 2018, The Perils of Perception: Why We're Wrong About Nearly Everything, Atlantic Books, Londres Reino Unido

Ellis, J.J., M. Jacobs, J. Dijkstra, H. van Laar, J. P. Cant, D. Tulpan y N. Ferguson, Review: Synergy between mechanistic modelling and data-driven models for modern animal production systems in the era of big data, Animal 14(S2): s223–s237.

Esnaola-Gonzalez, I., M. Gómez-Omella, S. Ferreiro, I. Fernandez, I. Lázaro y E. García, An IoT Platform towards the Enhancement of Poultry Production Chains, Sensors 20(6): 1549.

Fang, C.; J. Huang; K. Cuan; X. Zhuang y T. Zhang, 2020, Comparative study on poultry target tracking algorithms based on a deep regression network. Biosyst. Eng. 190: 176–183.

Fang, C.; T. Zhang; H. Zheng; J. Huang; K. Cuan, 2021, Pose estimation and behavior classification of broiler chickens based on deep neural networks. Comput. Electron. Agric. 180: 105863.

Franzo, G., M. Legnardi, G. Faustini, C.M. Tucciarone y M. Cecchinato, 2023, When Everything Becomes Bigger: Big Data for Big Poultry Production, Animals 13(11): 1804.

Geffen, O., Y. Yitzhaky, N. Barchilon, S. Druyan e I. Halachmi, 2020, A machine vision system to detect and count laying hens in battery cages, Animal 14(12): 2628-2634.

George, A.S. y A.S. Hovan George, 2023, Optimizing Poultry Production Through Advanced Monitoring and Control Systems, Partners Universal International Innovation Journal 1(5): 77-97.

Hastie, T., J. Friedman y R. Tibshirani, 2009, The Elements of Statistical Learning Data Mining, Inference, and Prediction, J.H. Friedman Editor, Springer New York, pp: 1-758.

Jones, P.J., J. Niemi, J.P. Christensen, R.B. Tranter y R. M. Bennett, 2018, A review of the financial impact of production diseases in poultry production systems, Animal Production Science 59(9): 1585-1597.

Kamilaris, A., A. Karakoullis, F.X. Penafreto-Boldú, 2017, A review on the practice of big data analysis in agriculture, Computers and Electronics in Agriculture 143: 23-37.

Kahneman, D., 2011, Thinking, Fast and Slow, Macmillan, Londre Reino Unido.

Kullback, S. y R. A. Leibler, 1951, On information and sufficiency, Ann. Math. Stat. 22: 79–86.

Leishman, E.M. J. You, N.T. Ferreira, S.M. Adams, D. Tulpan, M.J. Zuidhof, R.M. Gous, M. Jacobs y J.L. Ellis, Review: When worlds collide – poultry modeling in the 'Big Data' era Animal (In Press): 100874

Mollo, M.N., O. Vendrametto y M.T. Okano, 2009, Precision Livestock Tools to Improve Products and Processes in Broiler Production: A Review, Revista Brasileira de Ciência Avícola 11(7): 211-218.
Neethirajan, S., 2021, Automated Tracking Systems for the Assessment of Farmed Poultry, Animals 12(3): 232.
Orhan, H., E. Eyduran, A. Tatliyer y H. Saygici, 2016, Prediction of egg weight from egg quality characteristics via ridge regression and regression tree methods, Revista Brasileira de Zootecnia 45: 380-385.
Sallabi, F., M. Fadel, A. Hussein, A, Jaffar y H El-Khatib, 2011, Design and implementation of an electronic mobile poultry production documentation system, Computers and Electronics in Agriculture 76(1): 28-37.
Sassi, N.B., X. Averós e I. Estevez, 2016, Technology and Poultry Welfare, Animals 6(10): 62.
Shokker, D., I. N. Athanasiadis, B. Visser, R. F. Veerkamp y C. Kamphuis, 2020, Storing, combining, and analysing turkey experimental data in the Big Data era, Animal 14(11): 2397-2403.
Sousa, R.V., T.F. Canata, P.R. Leme y L.S. Martello, 2016, Development and evaluation of a fuzzy logic classifier for assessing beef cattle thermal stress using weather and physiological variables, Computers and Electronics in Agriculture 127: 176-183.
Tiwari, R., S. Phand y M.C. Sharma, 2010, Status and scope of information and communication technology for livestock and poultry production in India– A review, Indian Journal of Animal Sciences 80(12): 1235–1242.
Tyasi, T.L., K.M. Makgowo, K. Mokoena, L.T. Rashijane, M.C. Mathapo, L.W. Danguru, K.M. Molabe, P.M. Bopape, N.D. Mathye y D. Maluleke, 2020, Multivariate adaptive regression splines data mining algorithm for prediction of body weight of Hy-line silver brown commercial layer chicken breed, Adv. Anim. Vet. Sci. 8(8): 794-799.
Videla Rodriguez, E.A., F. Pértille, C. Guerrero-Bosagna, J.B.O. Mitchell, P. Jensen y V.A. Smith, 2022, Practical application of a Bayesian network approach to poultry epigenetics and stress, BMC Bioinformatics 23(261): 1-16.
Welch, M. T. Zimazile Sibanda, J. De Souza Vilela, M. Kolakshyapati, D. Schneider e I. Ruhnke, 2023, An Initial Study on the Use of Machine Learning and Radio Frequency Identification Data for Predicting Health Outcomes in Free-Range Laying Hens, Animals 13(7): 1202.
Wittgenstein, L., 1978, Remarks on the Foundations of Mathematics, Revised Edition; von Wright, G.H., Rhees, R., Anscombe, G.E.M., Eds.; Basil Blackwell, Oxford Reino Unido
You, J., E. Lou, M. Afrouziyeh, N.M. Zukiwsky y M.J. Zuidhof, Using an artificial neural network to predict the probability of oviposition events of precision-fed broiler breeder hens, Poultry Science 100: 101187.
Zuidhof, M.J., 2019, Precision livestock feeding: matching nutrient supply with nutrient requirements of individual animals, Presented as part of the Informal Nutrition Symposium “Towards Resolving Unsettled Issues in Poultry Nutrition” at the Poultry Science Association annual meeting in Montreal, Quebec, Canada, July 15–18, J. Appl. Poult. Res. 29:11–14.

AVEM
Aviespecialistas de México

HALLAZGO DE *Heterakis gallinarum* E *Histomona meleagridis* EN GALLINAS DE POSTURA EN JAULAS CON PISO ELEVADO

*[a] Alexis Rocha González, [a] Jesús Eduardo Morales Barrera
[a]Departamento de Producción Agrícola y Animal Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.
rochamvz@google.com

Resumen

Este reporte de caso describe las características clínicas, parasitológicas, patológicas e histológicas de una gallina de postura la cual presenta infestación por *Heterakis gallinarum (HG)*.
Se remite para su necropsia una gallina de postura Hy-line W-98 de 108 semanas de edad procedente de una Granja de postura con cría de aves en jaulas con piso elevado, ubicada en la carretera Tepatitlán de Morelos-Tototlán, Jalisco, México. A la inspección externa se observó al ave caquéctica, cresta y barbillas cianóticas, con diarrea verdosa/marrón. En la necropsia se observaron pequeños nematodos blanquecinos dentro de las paredes y la luz cecales con características morfológicas consistentes con *H*G. El examen histológico mostró mucosa cecal ligeramente engrosada y congestionada, así como equimosis en las paredes, en el tejido hepático examinado se encontraron trofozoítos con morfología concordante a *Histomona meleagridis*. Esta parasitosis fue vinculada a vectores secundarios como la mosca doméstica o a la ingesta de agua y alimento contaminados.
Palabras Clave: gallina de postura, infecciones gastrointestinales, interacción nemátodo-protozoario, nemátodo cecal, parasitosis,tiflitis.

Abstract
This case report describes the clinical, parasitological, pathological and histological characteristics of a laying hen infested with Heterakis gallinarum (HG).
A 108-week-old Hy-line W-98 laying hen was sent for necropsy from a laying farm with poultry raised floor cages, located on the Tepatitlán de Morelos-Tototlán highway, Jalisco, Mexico. On external inspection the bird was observed cachectic, cyanotic crest and chins, with greenish/brown diarrhea. At necropsy, small whitish nematodes were observed within the cecal walls and lumen with morphological characteristics consistent with HG. Histological examination showed slightly thickened and congested cecal mucosa and ecchymosis on the walls, and trophozoites with morphology consistent with Histomona meleagridis were found in the liver tissue examined. This parasitosis was linked to secondary vectors such as the house fly or to the ingestion of contaminated food and water.

Key Words: laying hen, gastrointestinal infections, nematode-protozoan interaction, cecal nematode, parasitosis, typhlitis.

Introducción

Los parásitos gastrointestinales en aves de postura son un problema común con altas prevalencias en los sistemas de producción, afectando el desempeño de estas, ya que conllevan a la pérdida de la condición corporal, pérdida de sangre y proteínas plasmáticas por el tracto gastrointestinal, alteraciones en el metabolismo proteico, depresión en la actividad de enzimas intestinales y diarrea.
Uno de los parásitos internos que afectan el tracto digestivo de las aves es *Heterakis gallinarum (Hg),* es un género de helmintos nematodos gastrointestinales de entre 4 y 15 mm de longitud de la familia *Heterakidae* que habita en el ciego de varias gallináceas domésticas y silvestres [1]. Tiene un ciclo de vida directo que no requiere de hospedador intermediario para completar su desarrollo, en general se cree que las aves criadas en alta densidad en cama tienen un mayor riesgo de acumular grandes cantidades de nematodos, las hembras depositan hasta 900 huevos al día y llegan al exterior con las heces. En el medio ambiente, al interior de estos huevos se desarrollan larvas infectivas L2 en unos 7 a 70 días, dependiendo de la humedad y temperatura ambiental (2 a 4 semanas a 27°C) [2]. Las larvas eclosionan en buche y molleja, pero la mayoría en intestino delgado, luego migran al ciego en donde algunas invaden la mucosa y pasan al tejido linfático; otras permanecen en las criptas o regresan al lumen. El periodo prepatente es de 24 a 36 días. Ejercen acción

traumática e irritativa ligera en la mucosa cecal, en donde en forma paralela ejercen acción expoliatriz al alimentarse con tejido y exudados tisulares.

En general las lesiones causadas por *Hg* suelen ser asintomáticas, en caso de infecciones masivas hay un ligero engrosamiento de la pared del ciego en donde pueden proliferar nódulos en las mucosas (tiflitis nodular), presencia de equimosis e inflamación, acompañada de congestión y hemorragia, el examen histológico permite precisar la situación de nódulos. En la cavidad se encuentran diferentes estados evolutivos del parásito, desde larvas hasta adultos. Las aves presentan heces diarreicas color verduzco, anorexia, emaciación, retraso del crecimiento, debilidad, en ponedoras puede llevar a una reducción notable del rendimiento ponedor y en ocasiones la muerte [3]. Aunque se ha considerado que esta especie no hace daño apreciable en las especies huésped más grandes (pollos, pavos, faisanes) es un parásito de importancia económica ya que su huevo sirve de vector para el parásito protozoario flagelado *Histomona meleagridis (Hm)*, causante de la histomoniasis (cabeza negra) en las aves de corral, los huevos latentes del gusano cecal pueden sobrevivir en el medio ambiente durante 3 semanas, mientras albergan histomonas, sin embargo, lombrices de tierra y la mosca domestica pueden también ingerir estos huevos y actuar como vectores secundarios (hospedadores paraténicos) al ser ingeridas por las aves, así como por medio del alimento y agua contaminados con huevos infectivos [4]. *Hg* al tener una alta persistencia en el huésped, se vuelve importante para la supervivencia de *Hm,* afecta principalmente a los pavos con lesiones en el ciego y en el hígado, la histomoniasis también puede ocurrir en gallinas ponedoras y reproductoras de pollos de engorda. Tras parasitar y degradar el tejido cecal, las histomonas migran al hígado a través de la sangre portal hepática, ocasionando lesiones patognomónicas hepáticas en forma de diana y núcleos cecales caseosos. Aunque menos común, también se ha demostrado que *Hm* puede infectar zonas como el cerebro, el páncreas, el corazón, los pulmones, riñones, bazo, bolsa de Fabricio [5]. El objetivo de la presente investigación, es dar a conocer que Hg se encontró en los ciegos de ponedoras en jaulas elevadas, así como Hm en el hígado de esas aves.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron diez gallinas de postura Hy line W-98 de 108 semanas de edad ya muertas, de las que se apartan diariamente de las jaulas elevadas por signos de enfermedad o bajas de peso, de una productora avícola de huevo ubicada en el camino de Tepatitlán de Morelos a Tototlán, Jalisco, México y se les realizó la necropsia. Se tomaron muestras del hígado y ciego de 1cm^3, en frascos con formalina al 10 % y enviadas al laboratorio de histopatología para la elaboración de laminillas histológicas con tinción hematoxilina-eosina.

Resultados

A la inspección externa, se observó a la gallina desplumada de la cabeza al pecho, con aspecto corporal delgado, borde prominente de la quilla con cobertura limitada de músculo y concavidad del músculo de la pechuga y signos de diarrea verdosa/marrón, con crestas y barbilla cianóticas (Figura 1).

AVEM
Aviespecialistas de México

Figura 1. Aspecto corporal caquéxico de las aves.

A la inspección de la cavidad celómica se observan ciegos con tiflitis y en su interior, se observaron abundante cantidad de nematodos de color blanco (Figura 2 y 3).

Figura 2 y 3. Lesiones macroscópicas con procesos inflamatorios cecales crónicos difusos, con adelgazamiento de las paredes de los ciegos por causa de la severa parasitosis por Heterakis gallinarums.

Se observó al microscopio estereoscópico el nematodo extraído de los ciegos el cual presenta una longitud aproximada de 8 - 15 mm, cola acentuada del larga, esófago ensanchado formando un bulbo posterior correspondiente a *Heterakis gallinarum* (Figura 4).

Figura 4. *Heterakis gallinarum*

Los hallazgos histológicos en el tejido hepático, se observa un proceso inflamatorio con células multinucleadas gigantes, macrófagos, células epitelioides, linfocitos y alrededor de pequeñas áreas claras con parásitos redondos eosinófilos identificados como trofozoítos de *Histomona meleagridis*; con extensas áreas necróticas parenquimatosas (figura 5-7).

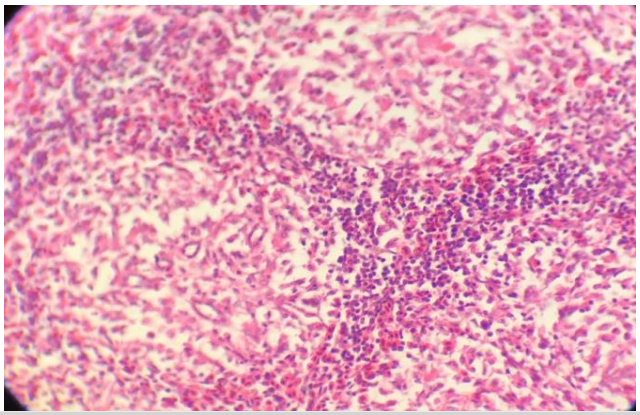


Figura 5. Corte histológico de Hígado. Se observan áreas focales de necrosis conteniendo numerosos trofozoítos de Histomona meleagridis, Tinción H-E. 10X

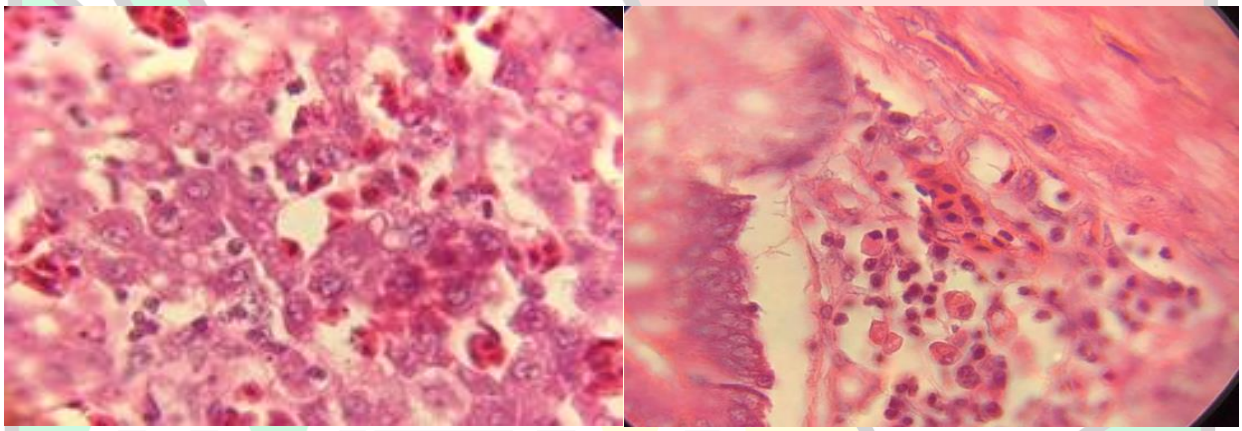


Figura 6 y 7. Cortes histológicos de Hígado de gallina ponedora con presencia de trofozoítos de *Histomona meleagridis.* Tinción HE. 40X.

AVEM
Aviespecialistas de México

Discusión

Aunque Heterakis gallinarum tiene un ciclo de vida directo que no requiere de un huésped intermedio para completar el desarrollo y en general se cree que las aves criadas en alta densidad en cama tienen un mayor riesgo de infestación [6] Siendo prácticamente nula la presencia de este parásito en la cría de aves en jaulas con piso elevado, sin embargo en la literatura, se ha reportado de algunos vectores como la lombriz de tierra y mosca domestica pueden alojar sus huevecillos con la fase infestante, así como alimentos y agua contaminados teniendo acceso a estos las aves al ingerirlos [7].
Además, sus huevos sirven como vector para el parásito protozoario *Histomonas meleagridis* , que es la causa de la histomoniasis en las aves y causar enfermedad por una grave inflamación del ciego y el hígado, con una elevada mortalidad de hasta el 90% en las parvadas de pavos, como en reproductoras pesadas. En los pollos, el curso de la enfermedad es menos grave, pero puede causar lesiones en el ciego y el hígado y una disminución significativa de la producción de huevos [8, 9]

Esta investigación, reveló una parasitosis gastrointestinal causado por el nematodo Heterakis gallinarum, a pesar de que la gallina proviene de un sistema de producción intensivo en jaulas elevadas, por lo cual no existirían este tipo de parasitosis, posiblemente causadas por las condiciones de producción, la presencia de fauna, vectores como la mosca El control de las enfermedades parasitarias, al igual que otras etiologías, depende en gran medida del diagnóstico preciso y oportuno de los agentes etiológicos, a fin de establecer el correcto y eficaz tratamiento que permita mejorar la rentabilidad de la empresa.

Referencias

[1] G. Das, P. O. Westermark , M. Gauly. «Diurnal variation in egg excretion by Heterakis gallinarum». *Parasitology,* vol. 146, nº 2, pp. 206-212, 2019.

[2] F. Beckmann, T. Dormitorio, S. O. Oladipupo, M. T. Bethonico Terra, K. Lawrence, K. S. Macklin. «Heterakis gallinarum and Histomonas meleagridis DNA persists in chicken houses years after depopulation». Vet Parasitol, vol. 298, pp. 109536, 2021.

[3] G. Dunnam, A. Varela-Stokes, H. Rose y A. Banda. «Heterakis isolonche Infection Associated with Severe Nodular Typhlitis and Suspect Aberrant Pulmonary Migration in a Golden Pheasant (Chrysolopus pictus)» Avian Dis. vol. 66, nº 2, pp.243-247, 2022.

[4] A. A. Marchiondo, L. R. Cruthers, C. R. Reinemeyer. «In Vitro and in Vivo Tests with Relevant Parasite Rearing and Host Infection/Infestation Methods Nematoda. Chapter 2». Parasiticide Screening, vol. 2.pp. 135-335,2019.

[5] C. Beer Lesleigh, V. M.Petrone Garcia, B. Graham, H.B. Danielle, G. Tellez Isaias , C.N. Vuong. «Histomonosis in Poultry: A Comprehensive Review ». Frontiers in Veterinary Science, vol. 9, pp. 1-16,2022.

[6] Cupo, K. L., & Beckstead, R. B. «Heterakis gallinarum, the Cecal Nematode of Gallinaceous Birds: A Critical Review». Avian Diseases, vol.63, nº 3, pp. 381-388, 2019.

[7] S.A. Jilo, T. Abafogi , S. Z. Abadura, R. Hussein , L. Abdulhak y S. P Nair «Review on epidemiology, pathogenesis, treatment, control and prevention of gastrointestinal parasite of poultry». International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry. Vol 7 nº 5, pp.26-34,2022.

[8] M.T. Terra, K.S. Macklin, M. Burleson, A. Jeon, J.F. Beckmann,R. Hauck. «Mapping the poultry insectome in and around broiler breeder pullet farms identifies new potential Dipteran vectors of Histomonas meleagridis». Parasit Vectors. vol. 16 nº 20, 2023.

[9] T. Abdul-Aziz, O. Fletcher y H. J. Barnes. «Avian Histopathology». Fourth edition. AAAP, American Association of Avian Pathologist. Pp. 407, 2016.

AVEM
Aviespecialistas de México

PELLETS PREPARADOS CON FITOELEMENTOS EN SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE HUEVOS EN GALLINAS PONEDORAS EN SU SEGUNDO Y TERCER CICLO DE PUESTA BAJO ESTRÉS CALÓRICO

Zacnite Sánchez Portilla[1], Lilia Gutiérrez Olvera[1], Héctor Sumano López[1], Lizbeth Carrillo González[1]
1. Departamento de Fisiología y Farmacología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Delegación Coyoacán, 04360. México
lizbethcarrillo@fmvz.unam.mx

Resumen
La biodisponibilidad (F) de calcio y otros nutrientes del tracto gastrointestinal en gallinas de segundo y tercer ciclo de postura y en gallinas sometidas a estrés por calor es insuficiente para mantener la producción de huevos necesaria. Se ha demostrado que la administración de cantidades adicionales de cualquier fuente de calcio es insuficiente para cubrir la demanda de calcio. Sin embargo, ya se ha logrado un calcio mejorado en estas gallinas si el carbonato de calcio se prepara farmacéuticamente como gránulos patentados llamados FOLA (F = biodisponibilidad; O = óptimo; LA = acción prolongada). Por lo tanto, se han establecido desafíos clínicos para probar los gránulos de FOLA como una forma de mantener la producción de huevos y el espesor de la cáscara del huevo en gallinas ponedoras Bovans-White de segundo y tercer ciclo, divididas aleatoriamente en seis grupos de la siguiente manera: segundo ciclo, grupo de control (GCC2); grupo FOLA + capsaicina (GFcC2); Grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo (GfexC2); para gallinas de tercer ciclo, grupo control (GCC3); grupo FOLA + capsaicina (GFcC3); Grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo (GFexC3). El estudio anterior se repitió en condiciones de estrés térmico moderado y se realizó un seguimiento mediante mediciones termográficas oculares. Los resultados muestran que todas las gallinas alimentadas con FOLA del segundo y tercer ciclo de postura presentaron mejores promedios de postura y espesor de cáscara de huevo que los grupos de control no tratados (P <0,01). Lo mismo ocurrió en estas gallinas sometidas a estrés por calor moderado. En ambos escenarios y al menos en algunos días, GfexC2 superó a los otros grupos tratados con FOLA en los dos parámetros evaluados (P <0,05). Los pellets de FOLA como GfexC2 se postulan como una solución natural viable para la disminución de la puesta de huevos y del espesor de la cáscara en gallinas de segundo y tercer ciclo, e incluso bajo estrés por calor.

Palabras Clave: Fitoelementos; nutracéuticos; producción de huevos; grosor de la cáscara; 2º y 3º ciclo de producción; gallinas ponedoras.

Abstract
Bioavailability (F) of calcium and other nutrients from the gastrointestinal tract in the second and third laying cycle hens and in hens under heat-stress is insufficient to sustain the necessary egg production. The administration of additional amounts of any source of calcium has been shown to be insufficient to meet the demand for calcium. However, improved calcium F has already been achieved in these hens if calcium carbonate is pharmaceutically prepared as patented pellets named FOLAs (F=bioavailability; O=optimal; LA=long acting). Hence, clinical challenges were set to test the FOLA pellets as a form to sustain egg production and eggshell thickness in 180-second and 180-third cycle Bovans-White laying hens, randomly divided into six groups, blocked by cycle, as follows: cycle-2 control group (GCC2); FOLA-group + capsaicin (GFcC2); FOLA-group + capsaicin + turmeric powder + cinnamon powder (GfexC2); control-group for third cycle hens (GCC3); FOLA-group + capsaicin (GFcC3); FOLA-group + capsaicin + turmeric powder + cinnamon powder (GFexC3). The former study was repeated under moderate heat-stress conditions and a follow up carried out by means of eye thermographic measurements. Results show that all FOLA-fed hens of the second or third laying cycle presented better laying average and eggshell thickness than untreated control groups (P < 0.01). The same occurred in these hens under moderated heat-stress. In both scenarios and at least in some days, GfexC2 surpassed the other FOLA-treated groups in the two parameters assessed (P < 0.05). Fola pellets as for GfexC2 is postulated as a viable natural solution to the decreased egg-laying and shell thickness in second and third-cycle hens, and even under heat stress.
Key Words: Phyto elements; nutraceuticals; egg production; shell-thickness; 2nd and 3rd laying cycle; laying-hens

Introducción

Los huevos son de suma importancia para la nutrición humana. En todo el mundo se producen aproximadamente 80 millones de toneladas de huevos de gallina y se espera que el crecimiento de esta industria supere el 25% para el año

2030 [1] [2] Por lo tanto, es necesario mejorar la producción de huevos, y tal desafío no debe implicar el uso de promotores de producción antibacterianos y no debe comprometer la salud de las gallinas ponedoras. Incluso están surgiendo pequeñas explotaciones familiares para satisfacer esta demanda de huevos (Indrani S, 2018). Esta situación ha obligado a los investigadores a buscar alternativas para optimizar la producción de huevos, es decir, componentes a base de hierbas, ya que se han informado pocos e intrascendentes efectos secundarios con este enfoque [4] [5]. Los extractos de hierbas han demostrado ser inocuos y contribuir a mantener o mejorar la salud intestinal de las gallinas al tiempo que permiten un aumento de la producción sin impacto ambiental significativo (Hashemi SR, 2010) [7]. Más del 80% de las granjas productoras de huevos en México son consideradas como productoras intensivas, lo que implica un solo ciclo de producción de huevos. Luego, se sacrifican las gallinas. Esta decisión se basa principalmente en el hecho de que la postura del huevo en el segundo y tercer ciclo disminuye notablemente, es decir, un 40% o má (Abdulhakim S, 2019). Las cáscaras de huevo de baja calidad en el segundo ciclo de puesta se han relacionado con cambios corporales como una mala absorción intestinal de nutrientes, particularmente de calcio (Carrillo L, 2020).En trabajos previos se ha mencionado que se puede diseñar una preparación de liberación modificada de diversos productos farmacéuticos y nutracéuticos para mejorar las capacidades de absorción del tracto gastrointestinal (GIT) de las gallinas. Se ha otorgado patente para la forma farmacéutica granulada (MX/a/2012/013222) bajo el nombre de FOLA (F = biodisponibilidad; O = óptima; LA = acción prolongada) ya que puede mejorar la biodisponibilidad del calcio a partir del carbonato de calcio una de las fuentes más económicas de este elemento (Carrillo L, 2020) (J., 2004) (Sumano H, 2021). Un problema adicional a considerar es el calentamiento climático global. Las gallinas ponedoras se encuentran entre las especies más sensibles al estrés por calor debido a su deficiente capacidad para disipar el calor corporal. La producción y la salud de los huevos se deterioran rápidamente bajo el estrés por calor. La temperatura ambiental óptima para las gallinas ponedoras se ha fijado en aproximadamente 20ºC a 25ºC, con pequeñas variaciones según la raza [12].Si la temperatura ambiental se acerca o supera los 30 ºC, aparecen varios signos de estrés por calor, como una disminución del consumo de alimento y una caída distintiva en la producción de huevos (Kilic I, 2013) Existe una amplia variedad de estudios que han demostrado que la administración de aceites esenciales y extractos de plantas limita los efectos perjudiciales del estrés por calor en estas aves, principalmente cuando el estrés por calor no es extremo [12] (Kilic I, 2013). En este estudio, se han fabricado dos pellets tipo FOLA en un intento de sostener tanto el espesor de la cáscara como la producción de huevos en gallinas de segundo e incluso tercer ciclo y también en gallinas ponedoras expuestas a temperaturas superiores a su zona de confort (≥ 30 ºC) en el parte central de México durante el verano. Los gránulos tipo FOLA contienen un vehículo gastrorretentivo, además de canela y cúrcuma en polvo. La FDA ya aprobó la canela como fitoaditivo [14]. Tiene potentes propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y antioxidantes con acciones eliminadoras de radicales libres y fuertes efectos inhibidores sobre la producción de óxido nítrico (NO) al inhibir la actividad de NFκβ [7]. Además, se ha demostrado que reduce los efectos del estrés por calor en las aves de corral [14] La oleorresina de Capsicum mejora la inmunidad y la salud gastrointestinal general, mejorando el crecimiento y la calidad de la carne incluso en pollos de engorde sometidos a estrés por calor (Hashemi SR, 2010) [15] El polvo de cúrcuma (Curcuma spp.) y su principal principio activo, la curcumina (fitocompuesto polifenólico hidrofóbico), poseen varios beneficios terapéuticos como aditivo alimentario para aves de corral, incluida la resistencia a enfermedades. Además de otros principios potencialmente activos, la cúrcuma en polvo contiene curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina [16] Estas sustancias actúan como agentes antioxidantes y antiinflamatorios [17] y han sido elegidas como alternativa a los antibióticos en la alimentación animal para mejorar la producción [18] Dados los antecedentes presentados, y considerando que FOLAs es un sistema de liberación modificada capaz de mejorar la biodisponibilidad de nutrientes y principios activos en aves de corral (Carrillo L, 2020) la hipótesis de para este ensayo es que la producción de huevos y la calidad de la cáscara en segundo y tercer ciclo, así como las gallinas sometidas a estrés térmico moderado, se sustentarán mejor con fitocompuestos y carbonato de calcio fabricados en FOLA, en comparación con las gallinas no suplementadas.

Materiales y Métodos

Este estudio se realizó en una finca familiar en Texcoco, Estado de México. El Subcomité Institucional aprobó el estudio para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (SICUAE) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los pellets de FOLA se fabricaron como se describe en la patente MX/a/2012/013222.

Brevemente, los pellets FOLA se extruyen y fabrican con harina de maíz y trigo (1:1) que contienen vehículos de liberación modificada, 4,1% de carbonato de calcio, más dos ppm de oleorresina de pimiento de 500.000 Unidades Scoville (SHU) (VEPINSA SA de CV, Sinaloa, México). En otro lote experimental se añadió un 1 % de canela en polvo y un 1 % de cúrcuma en polvo. En este ensayo realizado se incluyeron un total de 180 gallinas Bovans-White con un peso de 1.570 ± 20 g, gallinas ponedoras en segundo ciclo (>180 semanas de edad) y 180 gallinas Bovans-White en tercer ciclo (>270 semanas de edad) de agosto a mediados de diciembre de 2022. Para probar el pellet FOLA sometido a estrés por calor ambiental, se estilizaron 90 gallinas Bovans White de segundo y tercer ciclo para determinar la producción de huevos y el espesor de la cáscara del huevo durante mayo de 2023, el período más caluroso del año en el centro de México, alcanzando temperaturas iguales o superiores a 30°C. Las gallinas se asignaron en grupos de tres por jaula tipo California, de 40 cm de ancho, 45 cm de profundidad y 45 cm de alto (600 cm3/gallina). El agua se proporcionó *ad libitum* a través de bebederos (uno por jaula) y se estableció un programa de iluminación de 16 horas de luz/8 de oscuridad. Para la prueba del ciclo postural, las gallinas se dividieron en seis grupos de 30 gallinas cada uno con la siguiente designación: GCC2 = grupo control del segundo ciclo; GFcC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento + cúrcuma en polvo + canela en polvo; GCC3 = grupo control del tercer ciclo; GFcC3 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC3 = grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo. Los grupos de control (GCC2 y GCC3) con o sin estrés por calor fueron alimentados con una dieta equilibrada de acuerdo con las pautas del linaje (Cuadro 1). Los grupos experimentales fueron privados de todo el carbonato cálcico fino y grueso que normalmente se añade a las gallinas ponedoras de segundo y tercer ciclo, y sólo se mantuvo el calcio contenido en forma de ortofosfato, ya presente en su pienso. Los requerimientos de calcio para las gallinas experimentales se cumplieron con gránulos de carbonato de calcio FOLA. El resto de los componentes del pienso se mantuvieron igual. Su alimento se suministró en un comedero (13,3 cm/gallina) a los grupos experimentales GFcC2 y GFcC3 a una dosis de 8 g de pellets de FOLA/gallina que contenían 4,1 % de carbonato de calcio más seis ppm de capsaicina. En los grupos GFexC2 y GFexC3, además de lo anterior, se incluyeron 1 % de cúrcuma en polvo (McCormick® de calidad alimentaria) y 1 % de canela en polvo (McCormick® de calidad alimentaria) en los gránulos de FOLA.

Para evaluar el posible efecto de los gránulos de FOLA impregnados con calcio en gallinas ponedoras sometidas a estrés por calor moderado, se tomó individualmente la temperatura corporal de las gallinas utilizando una cámara termográfica (FLIR®, Figura 1) apuntando al ojo. Las temperaturas ambientales del gallinero se midieron a las 13:00, 14:00 y 15:00 horas, que se consideran los meses más calurosos de la zona, siendo mayo el mes más caluroso.

El espesor de la cáscara del huevo se evaluó diariamente, en la zona media (entre los polos) con un Vernier digital de precisión que admite un error de 0,01 mm. Estos datos se compararon estadísticamente mediante pruebas t de Student y pruebas no paramétricas (prueba F para comparar variaciones). Se consideró un valor estadísticamente significativo cuando $P \leq 0,05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con Prism (GraphPad Software, para macOS, LLC).

Resultados

La Cuadro 2 muestra la media ± 1 DE del grosor de la cáscara del huevo de los grupos tratados con FOLA y de control una semana antes del tratamiento y tres semanas después. Las diferencias estadísticas entre grupos son marcadas. Estos datos se muestran en la Figura 2, y la Figura 3 muestra los porcentajes de postura semanal obtenidos para todos los grupos. La Figura 4 muestra las temperaturas corporales ± 1 DE de las gallinas no tratadas y las de las gallinas de segundo y tercer ciclo tratadas con FOLA. La Cuadro 3 resume las diferencias estadísticas en las temperaturas medias para cada grupo utilizando las pruebas t de Student.

Los resultados revelan que la producción de huevos y el grosor de la cáscara de los grupos tratados fueron estadísticamente superiores a los valores correspondientes obtenidos en los grupos de control. La aparente progresión de los valores medios comienza en la primera semana ($P < 0,05$ en la mayoría de los casos) y se mantiene durante la segunda y tercera semana ($P < 0,05$). En particular, destacan los parámetros alcanzados en los grupos GFexC2, teniendo valores estadísticamente diferentes de los otros grupos suplementados con FOLA en algunos días en uno o ambos parámetros medidos.

La temperatura media más alta en el gallinero durante mayo de 2023 fue de 31 ± 2 ºC.

Discusión

La vida útil comercialmente viable de las gallinas ponedoras en empresas agrícolas intensivas generalmente se limita a un único ciclo de aproximadamente un año. Esto se debe tanto a los compromisos comerciales con criaderos de reposición,

como a la fuerte caída en la producción de huevos en gallinas durante el segundo y tercer ciclo, teniendo caídas aproximadas del 30%. Por lo tanto, para muchos productores y veterinarios es más conveniente reponer a la parvada en lugar de mantenerla. Las ventajas o desventajas del reemplazo de parvada se pueden analizar desde varios ángulos, es decir, desde la huella de carbono que provoca el reemplazo constante de parvada hasta cuestiones de bienestar animal y humanidad, ya que la esperanza de vida de estas gallinas podría extenderse. Sin embargo, estas consideraciones van más allá de los objetivos de este artículo pero pueden merecer un análisis más detallado. Sin embargo, con la suplementación de los gránulos de calcio FOLA descritos en este ensayo, es posible extender un segundo e incluso un tercer ciclo a las gallinas productoras de huevos. Será de particular interés realizar estudios económicos en gallinas productoras de huevos para consumo humano y en gallinas productoras de huevos fértiles para producción de pollos de engorde. En cambio, con las aves de corral en unidades de producción, las gallinas de traspatio o de pequeños productores tienden a tener una vida productiva más larga ya que su reemplazo muchas veces no es del todo rentable. Los resultados obtenidos en esta prueba pueden beneficiar más inmediatamente a este segmento de la producción de huevos. La producción de huevos de gallina de calidad depende de muchos factores, incluido el estrés ambiental como el ruido, la adecuación de la dieta y la existencia o no de estrés por calor [19] (Ahmadi F, 2011) Sin embargo, las características clave que destacan por su exitosa comercialización y manipulación son su integridad y el grosor de la cáscara del huevo. Para optimizar tales características, es fundamental optimizar la biodisponibilidad del calcio en sangre (Abdulhakim S, 2019) (Sumano H, 2021) En este contexto, cabe destacar que una de las principales fuentes de calcio para la dieta de las gallinas es el carbonato de calcio, ya que es la fuente de calcio más económica. Se utiliza en la mayoría de las dietas en todo el mundo. Sin embargo, es la fuente de calcio menos soluble en agua y, por lo tanto, la absorción de calcio puede ser baja e impredecible, particularmente en gallinas ponedoras de segundo y tercer ciclo (Carrillo L, 2020) (Sumano H, 2021) Además, se reconoce que no sólo es la cantidad de calcio la que se absorbe deficientemente; la absorción de otros nutrientes también parece verse afectada durante el segundo y tercer ciclo productivo, generando las pérdidas mencionadas anteriormente en la producción de huevos [21] En este estudio, quedó claro que la medicación de gallinas de segundo y tercer ciclo con calcio en un diseño FOLA, fortificado con algunos fitoaditivos, logra una notable recuperación de la producción de huevos. Se ha demostrado en múltiples ensayos que los aditivos fitógenos son de gran importancia para mejorar o contribuir a la salud del tracto gastrointestinal de las aves de corral y, a través de este efecto, pueden mejorar significativamente tanto su producción como su bienestar (Hashemi SR, 2010) Además, se ha demostrado que los aceites y extractos esenciales pueden mitigar el impacto ambiental de la producción de huevos al optimizar la relación entre la producción de huevos y la ingesta de alimento de una gallina (Zhang L, 2022) Por lo tanto, el diseño pellet/FOLA de carbonato de calcio con fitoquímicos agregados satisface la necesidad demandada de diseñar la referida fuente de calcio que permanece disponible en el tracto gastrointestinal de las gallinas productoras de huevos cuando se requiere, por ejemplo, durante el proceso de formación de la cáscara por la noche. Esto, a su vez, se logra mediante la liberación programada de carbonato de calcio facilitada por vehículos que también mejoran la biodisponibilidad (Carrillo L, 2020) Además, es posible postular que la inclusión de fitoaditivos en los pellets de FOLA contribuye a mantener una mejor salud intestinal, permitiendo que la línea genética moderna de gallinas satisfaga sus requerimientos nutricionales de producción. Sin embargo, es factible suponer que la fórmula o fórmulas ideales aún requieren investigación adicional. Finalmente es importante señalar que no se han realizado comparaciones con gallinas del primer ciclo, ya que en estudios previos no se han detectado en este tipo de aves mejoras en la postura, ni diferencias estadísticamente significativas con las aves del segundo y tercer ciclo, en los parámetros medidos en este ensayo. Sin embargo, sería importante realizar estudios a escala industrial para confirmar o descartar estas últimas observaciones.

Cuadro 1. Composición y contenido de nutrientes calculado de la dieta en los grupos de control no tratados de gallinas ponedoras de segundo ciclo (GCC2) y tercer ciclo GCC3. Se incorporó calcio para las gallinas experimentales (GFcC2; GFCex2; GFcC3; GFCex3) a los gránulos de FOLA, también como carbonato de calcio. El resto de los componentes del pienso permanecieron inalterados.

Ingredients (Kg)	
Corn	595
Soybean meal 48%	267
Soy oil	13.00
Salt	4.00
Calcium carbonate	101.00
Ortophosphate 1820	11.00
Vitamine-E	3.00
DL-methionine 99	1.98
L-lysine 2.75	2.75
Vitamin B2	0.200
Vitamin B12	0.200
Ronozyme Phytase (GT)	0.100
Total	1000
Calculated Analysis (g/kg)	
Meatbolizable Energy (Kcal/kg)	2859
Crude Protein %	18.792
Total Calciium	4.100
Phosphorus (Disp)3.80	0.450
Methionine + Cysteine 4.50	0.800
Lysina%	0.980
Triptophan%	0.220
Sodium%	0.180
Choline (mg/kg)	1022.63
Chlorine%	0.275
Linoleic Acid%	1.867

1 Quantity/kg: Retinol 0.9 g, cholecalciferol 0.019 g, d-alpha tocopherol 10.004 g, phylloquinone 1.0 g, riboflavin 4.0 g, cyanocobalamin 0.060 g, pyridoxine 3.0 g, calcium pantothenate 13.0 g, niacin 25 g, biotin 0.063 g , choline chloride 250 g.
2 Quantity/kg: 0.2 g selenium, 0.1 g cobalt, 0.3 g iodine, 10 g copper, 50 g zinc, 100 g iron, 100 g manganese.

Cuadro 2. Diferencias estadísticamente significativas a lo largo de un estudio de tres semanas del grosor de la cáscara de huevo en gallinas ponedoras de segundo y tercer ciclo suplementadas con calcio granulado-FOLA (GFcC2; GFCex2; GFcC3; GFCex3) y en gallinas control no tratadas (GCC2 y GCC3). Datos basales una semana antes y después del tratamiento (semanas 1-3).

	GCC2	GFcC2	GFCex2	GCC3	GFcC3	GfexC3
GCC2		⊗	⊗	⊗	⊗	⊗
GFcC2	⊗			⊗		
GfexC2	⊗			⊗		
GCC3	⊗	⊗	⊗		⊗	⊗
GFcC3	⊗			⊗		⊗
GfexC3	⊗			⊗		

⊗ Diferencias estadísticamente significativas entre grupos, según lo revelado por las pruebas t de Student (P <0,05).
En los primeros siete días no hubo diferencias significativas entre los grupos.

Cuadro 3. Diferencias estadísticamente significativas en la temperatura corporal en gallinas ponedoras sometidas a estrés por calor moderado con aproximadamente 30°C en la hora pico (seguimiento de tres semanas). GCC2 y GCC3 fueron las gallinas control no tratadas y GFcC2; GFCex2; GFcC3; GFCex3 las gallinas de segundo y tercer ciclo suplementadas con calcio granulado-FOLA durante todo el período de estudio. Datos basales una semana antes y después del tratamiento (semanas 1-3).

	GCC2	GFcC2	GFCex2	GCC3	GFcC3	GfexC3
GCC2		⊗	⊗		⊗	⊗
GFcC2	⊗		⊗	⊗		⊗
GfexC2	⊗	⊗		⊗		
GCC3		⊗	⊗		⊗	⊗
GFcC3	⊗			⊗		⊗
GfexC3	⊗	⊗		⊗		

⊗ Diferencias estadísticamente significativas entre grupos, según lo revelado por las pruebas t de Student (P <0,05). En los primeros siete días no hubo diferencias significativas entre los grupos.

Figura 1. Imagen representativa de la medición de temperatura con la cámara FLIR

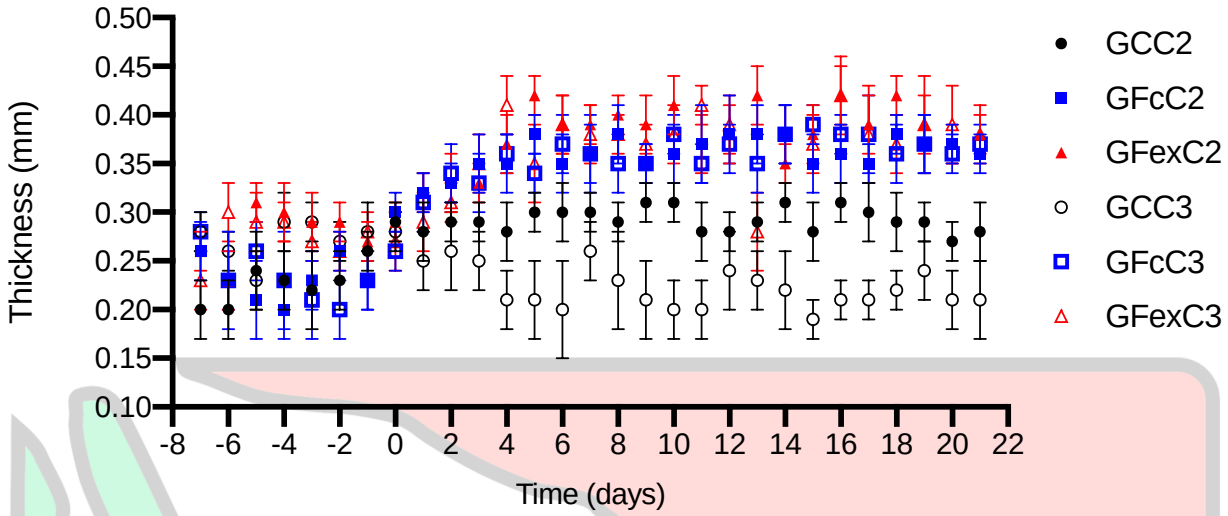


Figura 2. Media ± 1 DE del grosor de la cáscara del huevo en los grupos de control y en los grupos suplementados con calcio en pellets y FOLA. Datos basales (-1 semana) y post tratamiento (semanas 1-3). GCC2 y GCC3 = grupos control para segundo y tercer ciclo de postura; GFcC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento + cúrcuma en polvo + canela en polvo; GCC3 = grupo control del ciclo 3; GFcC3 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC3 = grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo.

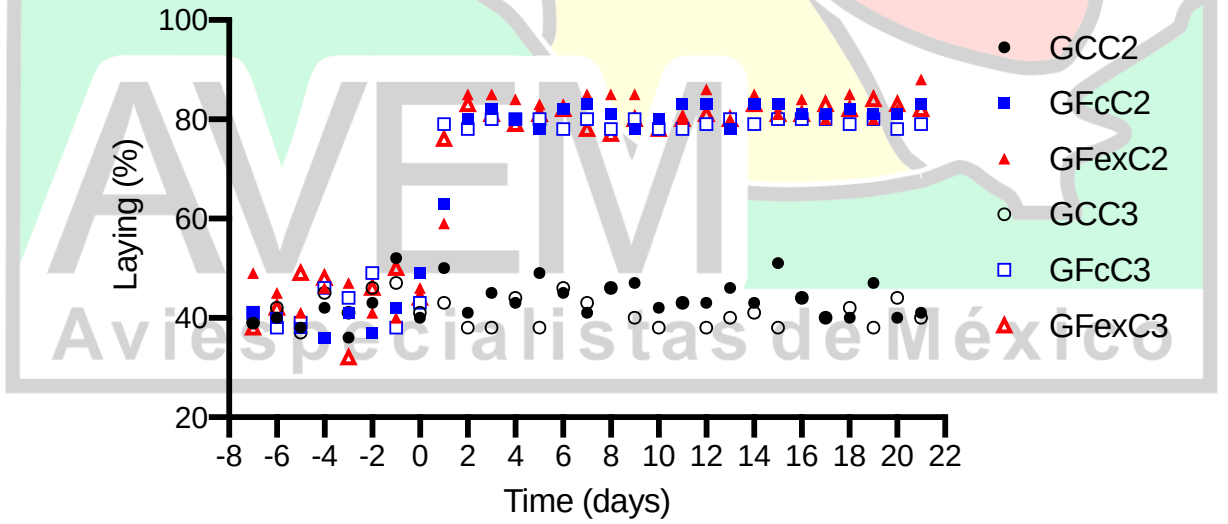


Figura 3. Media ± 1 DE de huevos puestos en los grupos de control y en los grupos suplementados con calcio en pellets y FOLA. Datos basales (-1 semana) y post tratamiento (semanas 1-3). GCC2 y GCC3 = grupos control para segundo y tercer ciclo de postura; GFcC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento + cúrcuma en polvo + canela en polvo; GCC3 = grupo control del ciclo 3; GFcC3 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC3 = grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo.

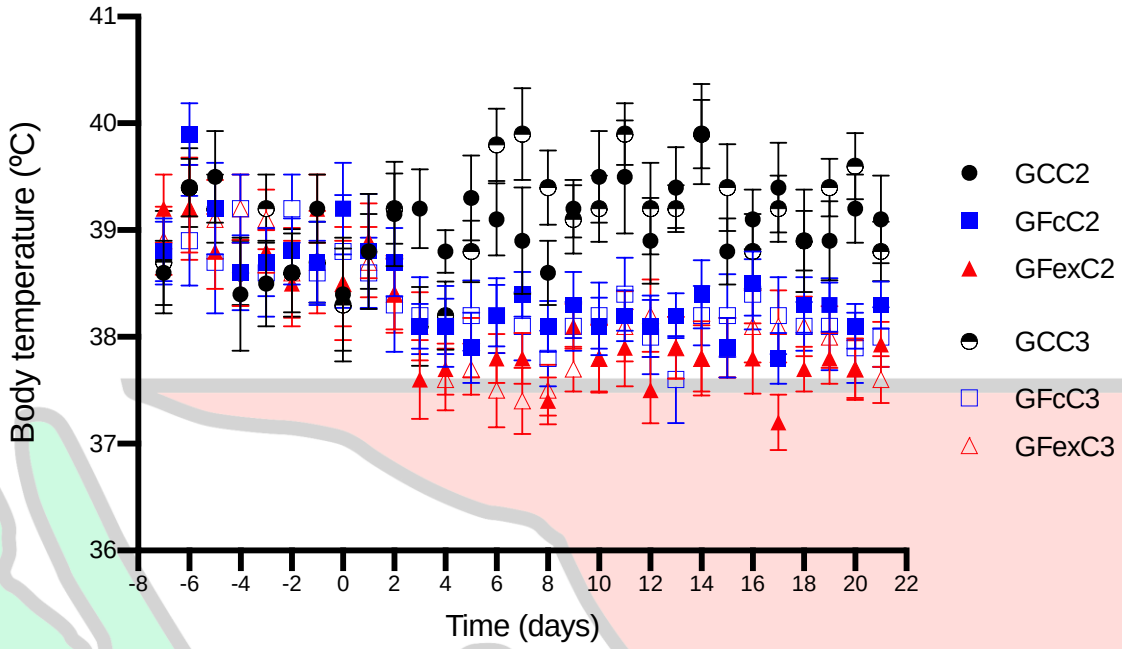


Figura 4. Media ± 1 DE de las temperaturas corporales medidas con una cámara termográfica FLIR en el ojo de gallinas productoras de huevos sometidas a estrés por calor moderado (aproximadamente 30°C) con los siguientes grupos: gallinas de segundo y tercer ciclo no tratadas (GCC2 y GCC3) y en grupos suplementados con calcio en pellets y FOLA: GFcC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC2 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento + cúrcuma en polvo + canela en polvo; GFcC3 = grupo FOLA + oleorresina de pimiento dos ppm; GFexC3 = grupo FOLA + capsaicina + cúrcuma en polvo + canela en polvo.

Referencias

[1] GOB.MX/SIAP., «Escenario mensual de productos agroalimentarios. Dirección de Análisis Estratégico. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/759467/Huevo_Agosto_2022.pdf,» 2022.

[2] UNA., «Unión Nacional de Avicultores. https://una.org.mx/mexico-promedio-de-consumo-anual-345-huevos-por,» 2023.

[3] S. Y. P. J. Indrani S, « Strategies for Backyard Poultry: A Controlled Way for Safe Food Production. doi: 10.1016/B978-0-12-811445-2.00014-3,» *Food Control and Biosecurity.,* vol. 1, nº 1, p. 481–517, 2018.

[4] L.-M. M.-P. G. M.-L. C. Y. S. G. R. T. e. a. Mehdi Y, «Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. doi: 10.1016/j.aninu.2018.03.002.,» *Animal Nutrition,* vol. 4, nº 2, pp. 170-178, 2018.

[5] S. E. K. A. M. M. K. S. N. K. e. a. Sureshbabu A, « The impact of curcumin on livestock and poultry animal's performance and management of insect pests. 2023; 10:1048067. doi: 10.3389/fvets,» *Frontiers in Veterinary Science.,* 2023.

[6] D. H. Hashemi SR, «Phytogenics as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. doi: 10.3923/javaa.2010.2295.2304,» *Journal of Animal and Veterinary Advances,* vol. 9, nº 17, pp. 2295-2304, 2010.

[7] S. W. P. S. G. C. L. J. Kalia VP, «Kalia VP, Shim WY, Patel SKS, Gong C, Lee J. Recent development in antimicrobial growth promoters in chicken healt: Oportunities and challenges. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155300,» *Science of the Total Environment.,* vol. 155300, nº 1, p. 834, 2022.

[8] S. Y. R. T. Abdulhakim S, «Egg quality and safety with an overview of edible coating application for egg preservation. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.182.,» *Food Chemistry,* vol. 1, nº 296, pp. 29-39, 2019.

[9] B. M.-J. M.-B. M. C. C. S. H. G. L. Carrillo L, « Higher bioavailability of calcium in chickens with a novel in-feed pharmaceutical formulation. doi.org/10.3389/fvets.2020.00343,» *Frontiers in Veterinary Science.,* vol. 7, nº 1, p. 343, 2020.

[10] R. J., « Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. doi.org/10.2141/jpsa.41.161,» *The Journal of Poultry Science.,* vol. 3, nº 41, pp. 161-177, 2004.

[11] C. L. M. M. T. G. G. L. Sumano H, « Bioavailability of four calcium sources in the second-cycle egg-producing hens. doi.org/10.1016/j.japr.2020.10.005,» *Journal of Applied Poultry Research.,* vol. 30, nº 1, pp. 100-106, 2021.

[12] L. K.-W. Kim D-H, «An update on heat stress in laying hens. doi.org/10.1080/00439339.2023.2239769,» *Worlds Poultry Science Journal.,* pp. 1-24, 2023.

[13] S. E. Kilic I, «The Effects of Heat Stress on Egg Production and Quality of Laying Hens. doi.org/10.3923/javaa.2013.42.47,» *Journal of Animal and Veterinary Advances.* , vol. 12, nº 1, 2013.

[14] P. E. P. G. C. J. S. H. D. F. Ali A, «Cinnamon: A natural feed additive for poultry health and production.doi.org/10.3390/ani11072026,» *A review Animals,* vol. 11, nº 7, p. 2026, 2021.

[15] E.-S. M. E. A. G. A. e. a. El-Hack MEA, « Hot red pepper as a safe alternative to antibiotics in organic poultry feed: an update review.doi.org/10.1016/j.psj.2022.101684,» *Poultry Science.,* vol. 101684, p. 101, 2022.

[16] H. P. E. I. C. D. W. A. R. G. Esatbeyoglu T, «Curcumin-from molecule to biological function. doi.org/10.1002/anie.201107724,» *Angewandte Chemie International Edition.,* vol. 51, nº 22, p. 5308–5332., 2012.

[17] G. F. S. M. Placha I, « Natural feed additives in animal nutrition – their potential as functional feed. doi.org/10.3389/978-2-8325-0843-5,» *Frontiers in Veterinary Science.,* vol. 9, p. 1062724 , 2022.

[18] Y. S. L. J. B. S. A. Y. A. E.-W. A. e. a. Shehata AA, « Probiotics, prebiotics, and phytogenic substances for optimizing gut health in poultry. doi.org/10.3390/microorganisms10020395,» *Microorganisms.,* vol. 10, nº 2, p. 395, 2022.

[19] R. J., «Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. doi.org/10.2141/jpsa.41.161,» *The Journal of Poultry Science.* , vol. 41, nº 3, pp. 161-177, 2004.

[20] R. F. Ahmadi F, « Factors Affecting Quality and Quantity of Egg Production in Laying Hens: A Review.,» *World Applied Sciences Journal.,* vol. 12, nº 3, pp. 72-384, 2011.

[21] K. Pelicia, E. Garcia, A. Faitarone, A. P. A. Silva, D. A. D. Berto, A. Molino y F. Vercese, «Calcium and available phosphorus levels for laying hens in second production cycle,» *Brazilian Journal of Poultry Science,* vol. 11, nº 1, pp. 39-49, 2009.

[22] G. F. G. J. L. H. X. F. B. H. e. a. Zhang L, « Potential of Aromatic Plant-Derived Essential Oils for the Control of Foodborne Bacteria and Antibiotic Resistance in Animal Production: A Review. doi.org/10.3390/antibiotics1,» *Antibiotics.,* vol. 11, nº 11, p. 1673, 2022.

AVEM
Aviespecialistas de México

DETERMINACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE *Aspergillus flavus*

Daniela Gama-Aguayo1, Gerardo Ramírez-Rico1, Juan Omar Hernández Ramírez1, Guadalupe Mireya dela Garza-Amaya2
[1] FES Cuautitlán UNAM, [2]CINVESTAV
dgama.plc@gmail.com

Resumen
Aspergillus flavus es uno de los principales hongos patógenos de importancia para la salud humana y animal; esta facultad se asocia con su capacidad de sintetizar diversos factores de virulencia tales como las proteasas. Ante la carencia de información específica sobre la actividad proteolítica de esta especie, en este trabajo se evaluó la actividad de las proteasas de secreción de A. flavus para degradar colágeno cuando crece en medios que proveen sustratos similares a los de su ambiente natural. El hongo fue cultivado en grano de maíz blanco y caldo papa-dextrosa (CPD) durante 10 días. Se elaboró una cinética de producción de esporas para la evaluación del vigor del hongo cada 24 h. El sobrenadante fue analizado mediante zimografía, donde se identificaron proteasas activas de diferente peso molecular en diferentes tiempos de crecimiento, temperatura y pH. La caracterización bioquímica se realizó empleando los inhibidores EDTA, 1,10-fenantrolina, PMSF y PHMB a diferentes concentraciones y valores de pH. En los cultivos de grano se identificaron seis proteasas de 250, 80, 45, 28, 25, y 15 kDa, mientras que en los cultivos de CPD se identificaron tres proteasas de 250, 65 y 55 kDa, algunas dependientes de pH. Debido a esto, las actividades proteolíticas son dependientes del medio en donde crece el hongo. Además, se observó la inhibición de todas las proteasas con PHMB; sin embargo, también se encontró inhibición con agentes quelantes (EDTA y 1,10-fenantrolina). Con base a estos resultados se concluye que las proteasas identificadas corresponden a cisteína-proteasas; sin embargo, se demostró la existencia de posibles iones involucrados en el sitio catalítico, probablemente de Zn y Ca. Estas proteasas podrían ser secretadas in vivo durante el proceso infeccioso e intervenir durante la patogenia de la enfermedad.
Palabras Clave: Aspergillus, aspergilosis, proteasas, hongo, grano

Introducción

Aspergillus flavus se ha identificado como uno de los principales hongos patógenos de importancia para la salud aviar, ya que es la segunda causa principal de enfermedades fúngicas aviares, después de A. fumigatus (1)
Las infecciones ocurren naturalmente en las bandadas domésticas y también pueden establecerse después de la exposición a aerosoles (1). En las aves, la aspergilosis respiratoria se considera una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (2).
La actividad patogénica de A. flavus no se reduce únicamente al efecto de las aflatoxinas que produce, sino también a su capacidad de infección de distintos tejidos, principalmente del tracto respiratorio de organismos vertebrados, denominada Aspergilosis. Los conidios acceden a los alvéolos pulmonares y germinan en hifas en crecimiento activo, lo que provoca una infección pulmonar y una enfermedad invasiva. Varios factores bioquímicos y celulares producidos por el organismo infectante pueden ayudar a la germinación de los conidios y a la penetración de las hifas emergentes en las células de los alvéolos pulmonares (1). Otros factores de virulencia, tales como las proteasas, actúan en etapas posteriores de la interacción entre microorganismo y huésped, interfiriendo en la capacidad de defensa del sistema inmune del huésped (3).
Las proteasas se refieren a un grupo de enzimas cuya función catalítica es hidrolizar los enlaces peptídicos de las proteínas, por lo que forman un gran grupo de enzimas pertenecientes a la clase de hidrolasas (4). Las proteasas extracelulares producidas por estos organismos ayudan a descomponer moléculas de proteínas complejas en nutrientes utilizables. Además, estas enzimas digieren la matriz extracelular formada por fibras de elastina y colágeno que facilita la penetración tisular y otros componentes del huésped (1). En la actualidad se carece de suficiente evidencia experimental de la actividad de los factores de virulencia identificados en A. flavus, la mayoría han sido implicados por extrapolación de estudios realizados en A. fumigatus u otros hongos filamentosos (1).

Aspergilosis aviar

La aspergilosis es una enfermedad de las aves domésticas y de vida libre causada por la infección de hongos del género Aspergillus, donde A. fumigatus, seguido de A. flavus son los agentes etiológicos aislados con mayor frecuencia en especies

aviares. Los conidios de Aspergillus spp. inhalados causan infección del tracto respiratorio y enfermedad sistémica en los órganos viscerales y el cerebro con el desarrollo de placas y nódulos caseosos de color blanco a amarillo en los tejidos, además del crecimiento de moho gris verdoso en los alvéolos. Microscópicamente, las lesiones se caracterizan por inflamación granulomatosa asociada con hifas fúngicas (5) .

La enfermedad aguda, comúnmente conocida como “Neumonía de las criadoras”, se caracteriza por una alta morbilidad y mortalidad con signos respiratorios y neurológicos ocasionales en aves jóvenes. Se adquiere mediante la inhalación de esporas y la primera infección se origina en las nacedoras. Las esporas de Aspergillus spp. penetran a la cámara de aire del huevo por medio de pequeñas cuarteaduras, penetrando y generando crecimiento del hongo en la cámara de aire (cámara de aire fúngica) provocando que los huevos infectados se observen de color verde. La contaminación de las nacedoras, se origina cuando los huevos embrionados son abiertos durante la incubación o la eclosión. La aspergilosis en una nacedora puede ocurrir por los ductos de aire u otros equipos contaminados (5, 6).

Por otro lado, la enfermedad respiratoria crónica se observa con mayor frecuencia en aves de corral adultas y aves cautivas, como aves rapaces, pingüinos y loros. El material de cama y el alimento contaminado son fuentes reconocidas de exposición de las aves de corral a Aspergillus spp. Los niveles de humedad y el potencial de formación de polvo de la cama aumentan la exposición a hongos en el aire y aumentan el riesgo de infección. Por lo tanto, los niveles relativamente altos de temperatura, humedad, polvo y producción de amoníaco presentes en las granjas avícolas promueven el rápido crecimiento de las hifas y la eficiente multiplicación asexual, lo que da como resultado una abundante producción de conidios diseminados por el aire. Estos conidios son posteriormente dispersados e inhalados por las aves, y el riesgo de aspergilosis severa se correlaciona con la cantidad de conidios inhalados (5, 7).

Proteasas de A. flavus

Se han logrado identificar una variedad de proteasas extracelulares secretadas por A. flavus, clasificadas como serina proteasas (SP), metaloproteasas (MP). Las funciones de enzimas extracelulares de esta naturaleza, se han estudiado ampliamente durante la infección y patogénesis de especies de otros hongos y levaduras como A. fumigatus y Candida spp., pero no de manera tan amplia en A. flavus (1).

Diversos investigadores (8, 9-15) creen que esta situación prevalece en el caso de A. flavus. Sin embargo, es posible que el papel de las proteasas extracelulares sea doble. Como estos organismos se encuentran comúnmente en nichos donde la disponibilidad de nutrientes es muy escasa, tienen que utilizar sustratos disponibles como nutrientes. Las proteasas extracelulares producidas por estos microorganismos ayudan a descomponer moléculas de proteínas complejas en nutrientes utilizables. Además, estas enzimas digieren la matriz extracelular formada por fibras de elastina y colágeno que facilita la penetración tisular (1). Estas proteínas alteran los procesos de transmisión de señales en el cuerpo, actúan como factores de virulencia en los procesos patogénicos y afectan la regulación del crecimiento en un nuevo entorno (16).

En diversas investigaciones, se han logrado identificar proteasas de A. flavus mediante las técnicas de SDS-PAGE y Western Blot, como se presenta en la Tabla 1.

AVEM
Aviespecialistas de México

Tabla 1. Proteasas previamente identificadas de Aspergillus flavus

Autor	*Clasificación de la proteasa*	*Masa molecular*	*Sustrato*	*Medio de cultivo*	*Técnica*
Ramesh y col. (1994)	**Serinaproteasa** Reacción cruzada con proteasa de *A. fumigatus*	36 kDa	**Elastina**	Medio de elastina(Yeast Carbon Base 1.17% + elastina insoluble 0.2 % + carbonato de Ca 0.3%) a 37° C.	SDS-PAGE & Western Blot
Ramesh y col. (1995)	**Metaloproteasa** Reacción cruzada con proteasa *A. fumigatus*	23 kDa *Rhodes, 1990	**Elastina**	Medio de elastina (*Ramesh 1994*)	SDS-PAGE & Western Blot
Chou y col. (1999)	**Serinaproteasa** alcalina (inhibición con PMSF)	34 kDa	**Caseína**	Medio de cultivo líquido	SDS-PAGE
Rhodes y col. (1990)	**Metaloproteasa** (inhibición con 1,10 fenantrolina)	23 kDa	**Elastina**	Yeast Carbon Base en buffer de borato con partículas de elastina.	SDS-PAGE
Kolattukudy y col. (1993)	**Serinaproteasa** Reacción cruzada con proteasa A. fumigatus	32 kDa	**Elastina**	Medio líquido con elastina (100ml) 1,17% Yeast carbon base + elastina	SDS-PAGE & Western Blot
Zhu y col. (1990)	**Serinaproteasa** (inhibición con PMSF)	28k Da	**Colágeno, Elastina**	Cultivo líquido sumergido (M9)	SDS-PAGE
	Metaloproteasa (inhibición con EDTA y 1,10 fenantrolina)	65kDa	**Colágeno, Elastina**		
Mellon y Cotty (1996)	**Metaloproteasas** (inhibición con EDTA y 1,10 fenantrolina)	23 kDa (35 kDa)	**Colágeno, Elastina y Proteína de Semilla de algodón**	Medio de cultivo líquido (V-8)	SDS-PAGE

Tabla compilada de las referencias de (9-15). Daniela Gama, 2023.

Objetivo General

Determinar y caracterizar bioquímicamente proteasas de A. flavus de diferentes fases de crecimiento en grano de maíz y caldo papa dextrosa como medios de cultivo.

Objetivos Particulares

- Realizar una cinética de producción de esporas de A. flavus en distintos medios de cultivo.
- Determinar la presencia de proteasas en el sobrenadante de cultivo de A. flavus en diferentes fases de crecimiento mediante zimografía.
- Determinar la presencia de proteasas en extractos de A. flavus de diferentes fases de crecimiento mediante zimografía.
- Identificar la variación en el perfil proteico de acuerdo al peso molecular de diferentes fases de crecimiento por SDS-PAGE.
- Caracterizar las proteasas identificadas con distintas condiciones de pH, temperatura, e inhibidores de actividad proteolítica.

Materiales y Métodos

Cultivo del hongo y obtención de muestras

A partir de la cepa 1325 de A. flavus en latencia, se realizó un trasplante del hongo a cajas de petri con agar papa-dextrosa (PDA) por punción con aguja en 5 puntos equidistantes. Las cajas con trasplante se incubaron por 7 días a una temperatura de 30 °C y con una humedad relativa (HR) del 35%.

Posteriormente, se realizó un raspado de toda la superficie de la caja y se mezcló con 10 ml de solución estéril de agua destilada con tween 20% y se filtró para obtener una suspensión de esporas, las cuáles fueron contadas en cámara de Neubauer para determinar la cantidad de esporas/ml.

Para el mantenimiento del hongo se inocularon 100,000 esporas de la suspensión en 500 g. de grano de maíz seco, previamente limpiado de forma manual y esterilizado por calor húmedo en autoclave. Diez gramos de grano inoculado se

almacenaron en 50 viales estériles, a los cuales se les añadió solución estéril de agua destilada con tween 20% en el volumen necesario para elevar la humedad del grano al 25% HR y se homogenizó. Los viales se taparon con una doble capa de gasa, fijada con una liga para permitir la entrada de oxígeno al interior. A su vez, el hongo fue también aislado en medio de cultivo líquido Papa- Dextrosa (CPD). Se realizó la inoculación con 100,000 esporas en 10 ml. de CPD en 50 viales estériles y se taparon con doble gasa. Los viales con ambos medios de cultivo se colocaron en el horno de incubación a 28° C durante 10 días y se realizó la lectura de la cantidade de esporas cada 24 hrs. (17). Se evaluó el vigor híbrido y se realizó una curva de producción de esporas del hongo mediante el conteo de esporas en cámara de Neubauer. Se realizó el conteo de 5 viales de cada medio de cultivo durante 10 días.

Para la obtención de muestras de sobrenadante (SN) y extracto completo (EXT), de los cultivos en grano, se colocó 8 ml. de solución estéril de H2O + tween 20% y se sometieron a agitación durante 1 minuto para desprender al hongo de la superficie del grano. Se filtró el contenido a través de papel filtro Whatman 40 (poro de 25 µm) para separar la estructura miceliar de las esporas. En los viales de caldo de cultivo se agitó el contenido para el desprendimiento de esporas y se filtró. En ambos casos, el filtrado se sometió a centrifugación a 245 x g durante 15 minutos y posteriormente se recuperó el SN. El SN fue filtrado a través de membranas de 0.22 µM para eliminar cualquier estructura micelial presente y se realizó la precipitación de proteínas con etanol absoluto en una relación 1:3 (muestra: etanol) a -20°C durante 48 h. Posteriormente, se centrifugó la mezcla 1720 x g /30 min/ 4°C. La proteína precipitada se resuspendió en 500 µl. de PBS 1X (18).

Para la obtención de EXT, después de la centrifugación, el sedimento de cada uno de los viales de ambos medios de cultivo recibió un lavado con solución estéril de H2O + tween 20% y se sometió nuevamente a centrifugación a 245 x g durante 5 minutos y se retiró el líquido de lavado. Este proceso se repitió en dos ocasiones más para completar 3 lavados en total, con el fin de eliminar cualquier residuo de SN. Una vez eliminado el último líquido de lavado, se re suspendió el sedimento con 1 ml. de H2O + tween 20%, se realizó el conteo de esporas en cámara de Neubauer y se almacenaron a -20°C (17).

Cuantificación de proteína

Se realizó la cuantificación de proteína total (PT) de las muestras por el método de Bradford y una curva estándar de albúmina sérica bovina (BSA) a distintas concentraciones (0,100, 200, 300 y 400 µg/ml). En una microplaca se colocaron 200 µl. de reactivo de Bradford y 10 µl. de muestra de cada uno de los 10 días de cada medio de cultivo. Se realizó la lectura de la placa a 595 nm. El cálculo se elaboró mediante regresión lineal empleando los valores de absorbancia de la lectura (19).

SDS-PAGE

La separación de las proteínas del SN y EXT de A. flavus se realizó en función de sus pesos moleculares, utilizando electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) al 10%. La preparación de muestras para el corrimiento electroforético se hizo agregando amortiguador de muestra 5x. Se ajustó la concentración de proteína a 25 µl. para el corrimiento en ambos casos. Se realizó una electroforesis a un voltaje de 80 V/10 min para el gel concentrador y 100 V/2 hrs. para el gel separador en una solución amortiguadora de corrida 1X. Los geles se tiñeron con azul brillante Coomassie R-250 durante 1 hr. a temperatura ambiente, posteriormente se destiñeron con una solución de metanol al 50% y ácido acético al 10% y se conservaron en una solución de ácido acético al 10% (20). La tinción de geles con plata se realizó empleando el kit de tinción de plata de Bio-Rad (Bio-Rad Silver stain kit #1610449, USA), los geles teñidos se conservaron en ácido acético al 5%.

Zimografía

Se realizaron electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% copolimerizados con 0.2% de gelatina porcina. Se ajustó la concentración de proteína necesaria a utilizar en el corrimiento electroforético de las proteínas precipitadas del SN y ET de A. flavus, empleándose 2.5 µl. de cada una de las muestras. Después de la electroforesis, los geles se incubaron en agitación con Tritón X100 al 2.5% durante 30 min a temperatura ambiente. Para caracterizar las actividades proteolíticas, se probaron diferentes amortiguadores de activación: 100 mM Tris-Acetato de sodio pH 5, 100mM Tris pH 7 y 100mM Glicina pH 9. Todos los amortiguadores contenían CaCl2 a una concentración de 2 mM. Los geles se incubaron durante 12-16 hrs. a temperaturas de 22 y 37 °C. Posteriormente se procedió a teñir los geles con azul de Coomassie por 24 hrs. y se destiñeron sometiéndolos a una solución de lavado hasta visualizar las bandas deseadas. Por último, los geles se conservaron en ácido acético al 5% (21).

Caracterización bioquímica de proteasas de A. flavus.

Para continuar con la caracterización de las proteasas presentes en SN y extractos completos de A. flavus, dependiendo de los residuos involucrados en el sitio catalítico, se usaron inhibidores de actividad proteolítica. Para la identificación de metaloproteasas se usaron 50 mM de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y 50 mM de 1,10-fenantrolina; para cisteína proteasas se usó 50 mM de ácido 4-(hidroximercurio) benzoico (PHMB) y finalmente para serina proteasa se empleó 50 mM de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF). Estos inhibidores se mezclaron con las muestras previamente obtenidas durante 1 hr. en agitación a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó una zimografía como se describió anteriormente.

Rompimiento de estructuras fúngicas por choque térmico.

Para el rompimiento de las estructuras fúngicas de las muestras de extracto (EXT), se incubaron los microtubos con la suspensión de esporas a 95 °C durante 15 min. Inmediatamente después, los tubos se transfirieron a un contenedor con nitrógeno líquido a -200 °C donde permanecieron durante aproximadamente 10 min. Este proceso se repitió una vez más para someter las muestras a dos choques térmicos. Las muestras se conservaron a -20 °C.

Resultados

Curva de producción de esporas

Mediante el conteo de esporas realizado en los cultivos de grano de maíz y CPD, se realizó una curva de producción de esporas, que ayudó a visualizar el comportamiento y vigorosidad del hongo a lo largo de un periodo de 10 días. Los datos fueron transcritos a tablas de Excel donde se calcularon promedios, desviaciones estándar y finalmente se graficaron estos valores.

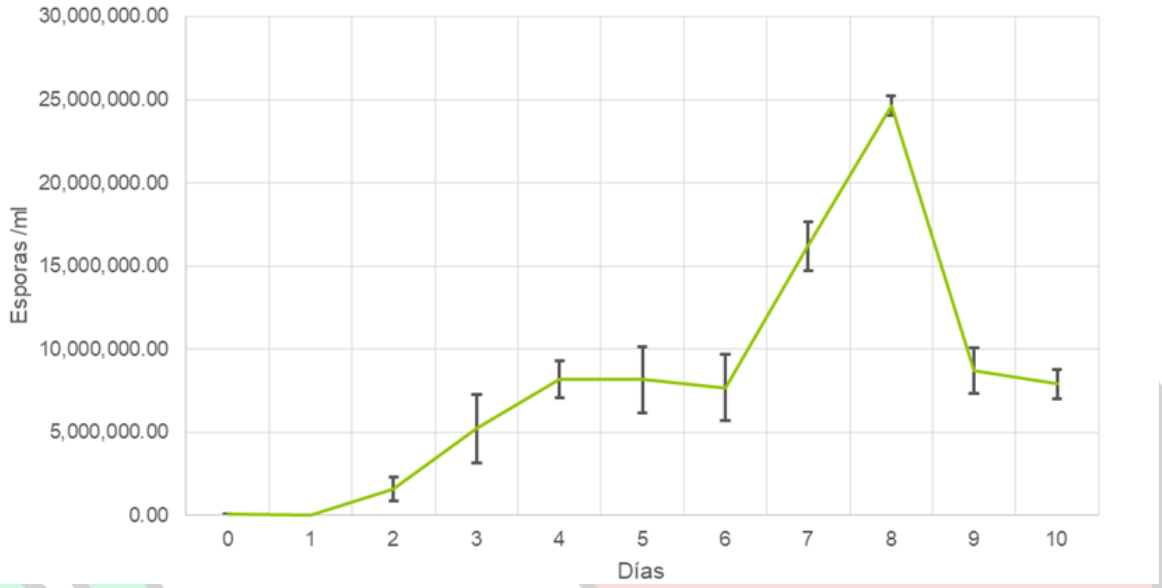
Los conteos de esporas en los cultivos en grano de maíz mostraron altos valores en la cantidad de producción de esporas. Desde el segundo día se obtuvieron valores promedio de 1, 610,000 esporas/ml., y hacia el día 8 que corresponde al punto más alto en el gráfico se observan valores promedio de 24, 650, 000 esporas/ml., véase Tabla 2.

Tabla 2. Valores de Promedio de esporas/ml. y desviación estándar de los conteos de A. flavus en grano de maíz realizados a 10 días.

Día	Esporas/ml	±	DE
0	100,000		
1	5,100.00	±	651.92
2	1,610,000.00	±	713,924.02
3	5,216,666.67	±	2,064,784.09
4	8,175,000.00	±	1,128,789.91
5	8,175,000.00	±	1,990,184.25
6	7,683,333.33	±	1,993,949.18
7	16,200,000.00	±	1,473,091.99
8	24,650,000.00	±	576,628.13
9	8,700,000.00	±	1,393,735.99
10	7,900,000.00	±	884,590.30

Resultados de 5 ensayos con muestras independientes. El día 0 representa el inóculo inicial.

Figura 1. Curva de producción de esporas de A. flavus en grano de maíz.



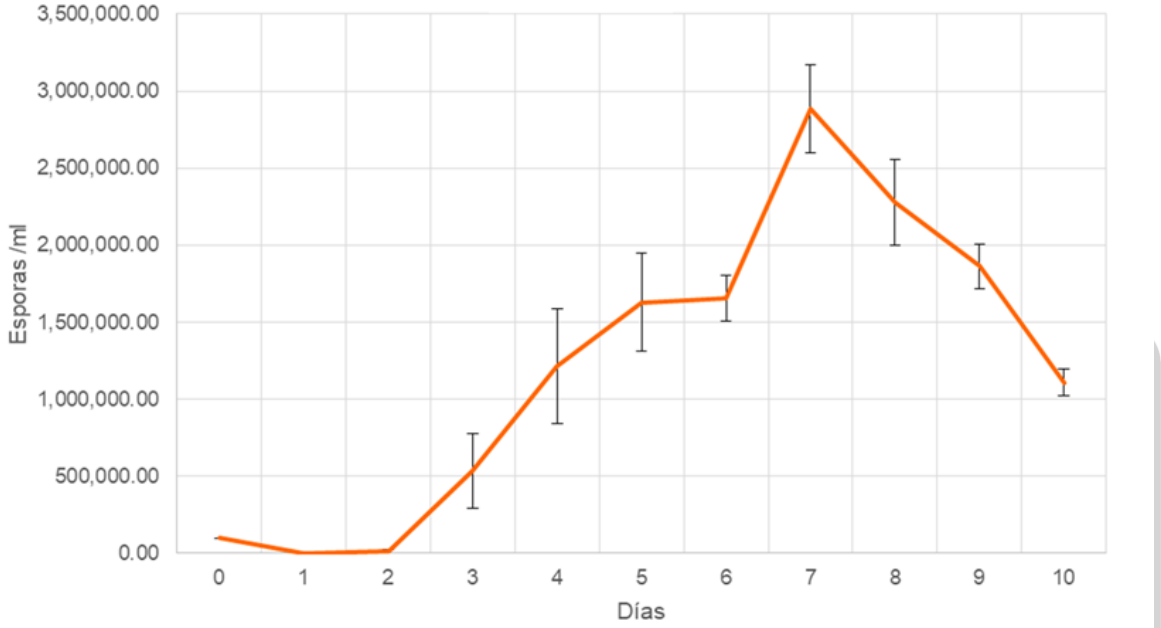
En el eje de las "X" se muestran los días de incubación, mientras que en el eje de la "Y" se muestran los valores de esporas contadas por ml. Entre los días 0 y 1 puede observarse la fase de adaptación del hongo. A partir del día 2 hasta el día 4 se aprecia una fase de crecimiento logarítmico, volviéndose estacionaria entre los días 4 y 6. En el día 7 se observa un repunte en la producción de esporas de manera exponencial, seguido de una fase de muerte donde se observa la disminución en la producción de esporas.

Tabla 3. Valores de Promedio de esporas/ml. y su desviación estándar de los conteos de A. flavus en CPD realizados a 10 días.

Día	Esporas/ml ± DE		
0	100,000		
1	1,300.00	±	570.09
2	12,700.00	±	9,059.53
3	536,625.00	±	243,027.22
4	766,666.67	±	455,530.83
5	1,628,333.33	±	319,917.05
6	1,655,000.00	±	150,249.79
7	2,550,000.00	±	623,237.51
8	2,276,666.67	±	280,237.99
9	1,861,666.67	±	143,730.07
10	1,261,250.00	±	317,368.74

Resultados de 5 ensayos con muestras independientes. El día 0 representa el inóculo inicial.
En los conteos de esporas de los cultivos en CPD, en el día 2 se observaron valores promedio de apenas 12,700 esporas/ml., mientras que en el día 7 que corresponde al día con la mayor producción de esporas en este medio, los valores promedio se ubican alrededor de los 2,550,000 esporas/ml., véase Tabla 3.

Figura 2. Curva de producción de esporas de A. flavus en CPD.



En el eje de las "X" se muestran los días de incubación, mientras que en el eje de la "Y" se muestran los valores de esporas contadas por ml. A partir del día 0 al día 2 se observa la fase de adaptación, seguida de una fase crecimiento logarítmico que inicia en el día 3 y se detiene alrededor del día 5, a partir del cual se aprecia una fase estacionaria o de meseta entre los días 5 y 6. En el día 7 se observa un repunte
con una producción de esporas de forma exponencial, seguida de una disminución en la producción de esporas hacia los días 8, 9, y 10.

Al analizar las curvas de producción de esporas en las Figuras 1 y 2, es posible identificar cada una de las diferentes fases de crecimiento con base a la producción de esporas que A. flavus produjo en cada uno de los medios en los que se creció y al compararlas es posible reconocer que el comportamiento del hongo fue similar en ambas. La curva inicia con una fase de adaptación, seguida de una fase de crecimiento exponencial, que se detiene dando lugar a una fase de meseta o estacionaria. A continuación se observa un notorio repunte marcado por una segunda fase de crecimiento exponencial, que finalmente decrece, iniciando la fase decreciente o de muerte donde se aprecia una clara disminución en la producción de esporas.

Cuantificación de proteína total en muestras de SN cultivos de A. flavus en grano de maíz y CPD

Se realizó la cuantificación de la proteína total en las muestras de SN de grano de maíz y SN de CPD, así como de las muestras de EXT con esporas rotas.

A continuación, se presentan los resultados con los valores de µg/ml. de proteína total (PT) en las muestras de SN de cultivos en grano de maíz, y en SN de cultivos en CPD. Puede apreciarse una diferencia en la cantidad de proteína total secretada por el hongo al crecer en distintos medios de cultivo. La cantidad de proteína presente en los SN de cultivos de grano de maíz es mayor que la cantidad de proteína presente en los SN de cultivos en CPD. Esto indica que A. flavus secreta más proteínas extracelulares cuando crece en un medio de cultivo natural como el grano de maíz, a diferencia de cuando crece en un medio semisintético como el CPD, véase Tabla 4.

Tabla 4. Valores de proteína total en SN de cultivos de A. flavus realizados a 10 días.

Día	PT en SN de cultivos en grano de maíz µg/ml	PT en SN de cultivos en CPD µg/ml
2	70.75	36.06
3	96.97	53.10
4	112.54	41.65
5	137.67	38.79
6	142.86	18.30
7	118.55	78.94
8	178.09	107.89
9	158.15	17.48
10	159.25	17.21

Se muestran los valores de PT/ml. obtenidas para las muestras de cada uno de los días evaluados a partir del día 2. La segunda columna muestra los valores de PT obtenidos en los SN de cultivos en grano de maíz, mientras que en la tercera columna se muestran los valores de PT presente en el SN de cultivos en CPD.

SDS-PAGE

Con el fin de identificar el perfil proteico de las muestras de SN de cultivos en grano de maíz y en CPD, se realizó el corrimiento electroforético de 3 muestras al azar de cada día evaluado y se formaron tres grupos de muestras, cada uno con una muestra por día, obteniendo 3 grupos de 10 días por cada medio de cultivo. Para cada grupo se elaboraron geles de poliacrilamida al 10% y posteriormente fueron teñidos con azul de Coomasie. Al no observarse bandeo en el día 1, se descartaron las muestras de este día.

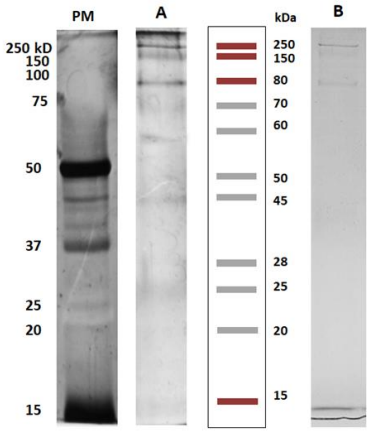
Perfil proteico de SN de cultivos de A. flavus en grano de maíz.

Al analizar los geles teñidos, solo fue posible observar un ligero bandeo con pesos moleculares de 250, 150, 100 y 80 kDa en el caso del SN de cultivos de grano de maíz , como puede observarse en la Figura. 4, carril. B.

Con el objetivo de lograr una mejor visualización del perfil proteico de las muestras, se realizó el corrimiento de nuevos geles de poliacrilamida al 10%, con 25µl. (3.2 µg. de PT) de muestra en cada carril y se empleó una tinción de plata. A continuación, se muestran los resultados en las Figuras 3, carril. A y Figura 4, carril A.

En las muestras de SN de grano de maíz se logró identificar un perfil proteico conformado por una serie de proteínas de distintos pesos moleculares, cuya presencia fue constante a lo largo de los días evaluados.

Figura 3. SDS-PAGE al 10% SN de cultivos A. flavus en grano de maíz.



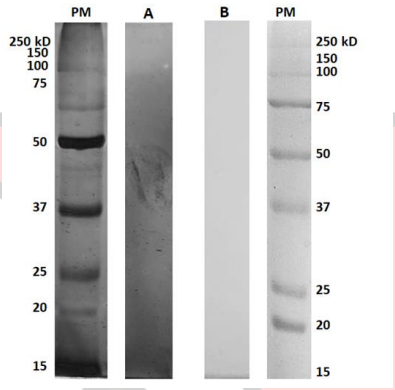
En el primer carril se observa el marcador de peso molecular (PM) A. Carril representativo del gel teñido con plata, todos los carriles del gel mostraron un bandeo similar. B. Carril representativo del gel teñido con azul de Coomasie, todos los carriles del gel mostraron un bandeo similar. Al centro se esquematiza el bandeo observado con tinción de plata, con rojo

se señalan las bandas que pudieron ser igualmente visualizadas con la tinción de azul de Coomasie, las bandas grises corresponden al bandeo que solo fue observado con plata.

Perfil proteico de SN de cultivos de A. flavus en CPD

En las muestras de SN de cultivos en CPD no fue posible visualizar un bandeo en ninguna de ambas técnicas de tinción, como se observa en la Figura 4, por lo que no fue posible determinar el perfil proteico de estas muestras mediante estas técnicas.

Figura 4. SDS-PAGE al 10% SN de cultivos A. flavus en CPD.



En el primer y cuarto carril se observa el marcador de peso molecular (PM). A. Carril representativo del gel teñido con plata, todos los carriles del gel mostraron un bandeo similar. B. Carril representativo del gel teñido con azul de Coomasie, todos los carriles del gel mostraron un bandeo similar.

Zimografía

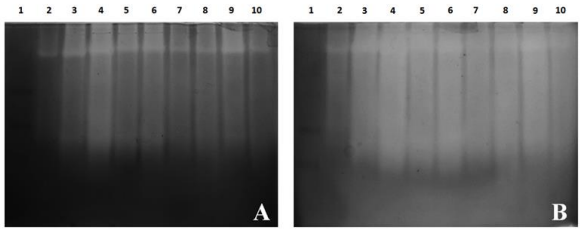
Mediante la técnica de zimografía, se determinó la actividad proteolítica al emplear gelatina como sustrato para su degradación. Esta es un sustrato general para el estudio de actividad proteolítica específica para la degradación de colágeno.

Se seleccionaron al azar tres muestras de cada día evaluado y se formaron tres grupos de muestras, cada uno con una muestra por día. Esto se realizó de igual forma para las muestras de cada uno de los medios de cultivo. Para cada grupo se elaboraron zimogramas al 10% copolimerizados con 0.2% de gelatina y se incubaron a 22 y 37° C, en valores de pH de 5, 7 y 9. La actividad proteolítica presente en las muestras se evidenció mediante la degradación del sustrato, que se observa como un bandeo sin pigmento. Al no observarse actividad el día 1, se descartaron las muestras de este día. Inicialmente se cargaron 25 µl. de muestra (3.2 µg. de PT en SN de cultivos de grano de maíz y 1.4 µg. de PT en SN de cultivos CPD) en cada carril.

Al comparar los geles incubados en cada una de las temperaturas probadas se observó actividad proteolítica en ambas, sin ninguna diferencia en el patrón o perfil proteolítico, sin embargo, fue posible observar una mayor degradación en los geles incubados a 37 °C, por lo que se decidió continuar únicamente con esta temperatura de incubación para los siguientes ensayos. Los resultados de la incubación en ambas temperaturas se muestran en la Figura 5.

De igual forma no fue posible observar diferencia en el patrón de actividad proteolítica tras la incubación a distintas temperaturas. A 37 °C se observa una mayor degradación que complica la observación de un bandeo definido, indicando mayor actividad proteolítica, por lo que se ajustó el volumen de muestra de ambos medios de cultivo a 5 µl. por carril (0.65 µg. de PT en SN de cultivos de grano de maíz y 0.28 µg. de PT en SN de cultivos CPD).

Figura 5. Zimogramas al 10% copolimerizados al 0.2% con gelatina de SN de cultivos A. flavus en grano de maíz a pH 7.



A. incubación a 22°C, B. incubación a 37°C. En el primer carril se observa el marcador de peso molecular. A partir del carril 2 se visualizan las muestras del día 2 al 10 de manera consecutiva.

Una vez estandarizada la técnica, se realizó el corrimiento electroforético de las muestras de cada uno de los grupos. En los tres geles de cada grupo, incubados en las mismas condiciones, pudo observarse un bandeo similar a lo largo de los días evaluados.

Zimografía de SN de cultivos de A. flavus en grano de maíz

En las muestras de SN de cultivos de grano de maíz se identificaron proteasas con un peso molecular de 250 kDa, 80 kDa, 45 kDa, 35 kDa, 28 kDa, y 25 kDa al ser incubadas en amortiguadores de activación con pH de 5, 7 y 9. La expresión de estas proteasas se observó constante a lo largo de todos los días evaluados, sin observarse un patrón de secreción asociado a los días de incubación. Adicionalmente fue posible observar una proteína activa con un peso molecular de 15 kDa que se presentó entre los días 3-7 en algunos ensayos, sin embargo, esta proteasa se mantuvo constante en el día 6, véase Figuras 6-8.

En los zimogramas incubados en un pH de 5, se identificaron proteínas con actividad proteolítica a los 250 kDa, 80 kDa, 45 kDa, 35 kDA, 28 kDa, 25 kDa y 15 kDa presentes durante todos los días con un grado de actividad similar, observándose mayor actividad a partir del día 3. Solo en el día 6 se observó actividad a los 15 kDa.

En los zimogramas incubados a un pH de 7 se identificaron proteínas con actividad proteolítica a los 250 kDa, 80 kDa, 45 kDa, y 35 kDa presentes durante todos los días con un grado de actividad similar, observándose mayor actividad a partir del día 3. Nuevamente, solo en el día 6 se observó actividad a los 15 kDa. Esta actividad también se presentó entre los días 3-7 en algunos ensayos, sin embargo, esta proteasa se mantuvo constante durante el día 6.

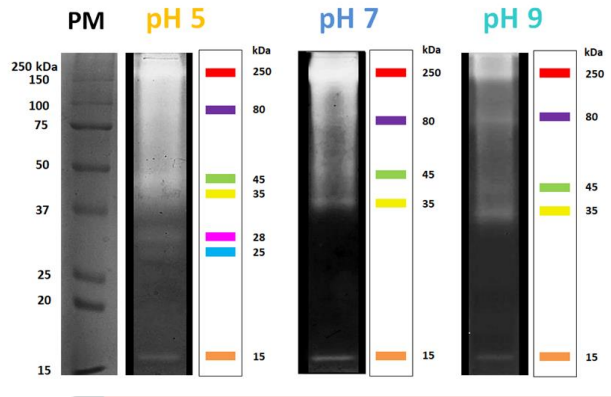
Al incubar los zimogramas en un pH 9 se identificaron proteínas con actividad proteolítica a los 250 kDa, 80 kDa, 45 kDa, y 35 kDa presentes durante todos los días con un grado de actividad similar, observándose mayor actividad a partir del día 3. Además, entre los días 3-7 en algunos ensayos, se observó actividad a los 15 kDa, sin embargo esta proteasa solo se mantuvo constante en el día 6.

Al realizar una comparación entre la actividad proteolítica evidenciada en cada uno de los valores de pH de incubación evaluados, como se muestra en la Figura 9, se observa que solo en pH 5 se observó la presencia de actividad proteolítica a los 28 kDa (banda rosa) y 25 kDa (banda azul). La actividad del resto de las proteasas identificadas es constante en los distintos valores de pH. Se comparó la actividad del día 6 de cada pH ya que se observó que este fue el día en el que se expresaron todas las proteínas activas identificadas.

El efecto de las variaciones en el pH de activación fue visible. En los tres valores de pH se observó actividad proteolítica, con una mayor degradación del sustrato al ser incubadas a pH 5 y 7 a comparación de pH 9. Las proteasas tuvieron una mayor actividad proteolítica en pH 5, véase Figura 9, indicando que el rango óptimo de pH para la actividad de estas proteasas se encuentra entre 5 y 7.

El pH 5 también tuvo efecto en el perfil de actividad proteolítica observada, ya que en este ensayo se pudieron identificar dos proteasas más con un peso molecular de 28 y 25, como es posible observar en la Figura 6, carril 2. Esto demuestra que para estas dos proteasas el pH de activación corresponde a un pH ácido, clasificándolas así como proteasas ácidas.

Figura 6. Comparativa de actividad proteolítica de SN de cultivos de A. flavus en el día 6 de crecimiento en grano de maíz a pH 5, 7, y 9.

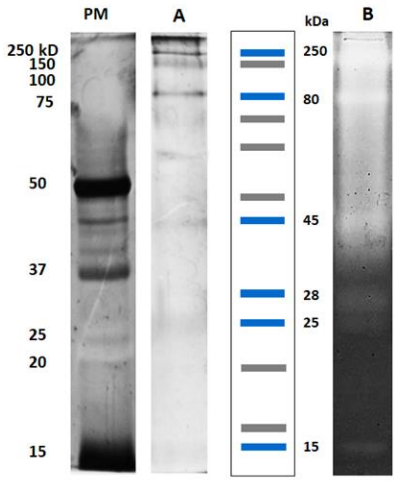


En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular (PM). Los siguientes tres carriles corresponden a los zimogramas a distintos pH de incubación, y a la derecha cada uno se esquematiza el bandeo correspondiente a las proteínas con actividad proteolítica, así como sus pesos moleculares.

Se comparó el perfil proteico de los SN, con la actividad proteolítica detectada por zimografía para confirmar las proteínas activas y sus respectivos pesos moleculares.

En el caso de las muestras de SN de cultivos en grano de maíz, al comparar los geles de perfil proteíco y zimografía, fue posible observar que seis de las proteínas identificadas en los geles de tinción de plata, poseen actividad enzimática capaz de degradar la gelatina de los geles. Los resultados de estas pruebas se presentan en la Figura 7.

Figura 7. Comparativa de perfil proteico y actividad proteolítica del SN de cultivos A. flavus en grano de maíz.



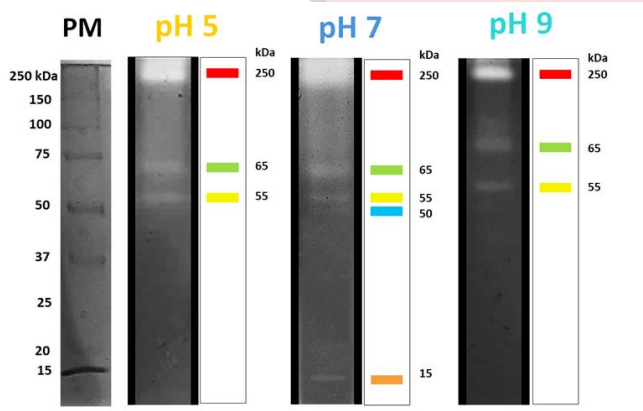
En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular. A. Perfil proteico de la muestra por SDS-PAGE al 10% y tinción de plata. B. Actividad proteolítica de la muestra por SDS- PAGE al 10% copolimerizado con gelatina al 0.2% . Al centro se esquematiza el patrón de bandeo de la muestra, con azul se marcan las bandas que también pudieron observarse en el zimograma, así como sus pesos moleculares.

Zimografía de SN de cultivos de A. flavus en CPD

En los zimogramas incubados a un pH de 5 se identificaron proteasas con pesos moleculares de 250 kDa, 65 kDa y 55 kDa presentes a lo largo de todos los días evaluados, en distinta proporción, observándose mayor actividad en el día 2, 4, 7 y 8.

En los zimogramas en un pH de incubación de 7 se identificaron proteínas con actividad proteolítica a los 250 kDa, 65 kDa, 55 y 50 kDa y presentes a lo largo de todos los días evaluados, en distinta proporción, observándose mayor actividad en el día 2, 8 y 9. Adicionalmente se observa una proteína activa de 15 kDa presente a partir del día 2 hasta el día 10.
En los zimogramas incubados a un pH de 9 se identificaron proteínas con actividad proteolítica a los 250 kDa, 65 kDa y 55 kDa presentes a lo largo de todos los días evaluados, en distinta proporción, observándose mayor actividad en el día 2, 4 y 8.
Se comparó el desempeño de la actividad proteolítica presente en las muestras de SN de cultivos de CPD a distintos valores de pH de incubación, como se muestra en la Figura 8. La comparación se hizo con las muestras del día 8 de cada pH ya que se observó que este fue el día en el que se expresaron todas las proteínas activas identificadas.
Es posible apreciar que solo en pH 7 se observó la presencia de actividad proteolítica a los 50 kDa (banda azul) y 15 kDa (banda naranja), lo que clasificaría a estas dos proteínas activas como proteasas neutras al solo mostrarse activas en este valor de pH.
La actividad del resto de las proteínas identificadas es constante en los distintos valores de pH, ya que no se observó diferencia en el grado de actividad entre los valores de pH de activación que se probaron, lo que indica la estabilidad de estas tres proteasas (250, 65, y 55 k Da) frente a esta variable.

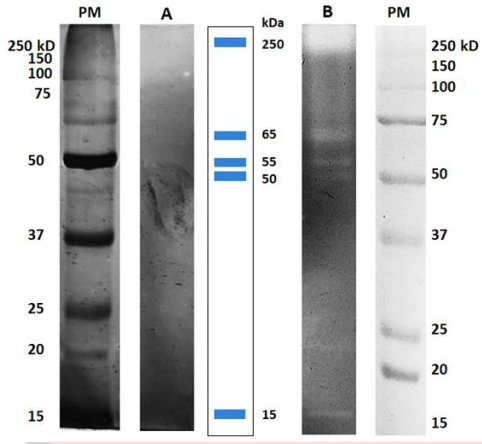
Figura 8. Comparativa de actividad proteolítica de SN de cultivos de A. flavus al día 8 de crecimiento en CPD a pH 5, 7, y 9.



En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular (PM). Los siguientes tres carriles corresponden a los zimogramas a distintos pH de incubación, y a la derecha cada uno se esquematiza el bandeo correspondiente a las proteínas con actividad proteolítica, así como sus pesos moleculares.
Para estas muestras también se compararon los resultados del perfil proteico con la actividad proteolítica detectada por zimografía para confirmar las proteínas activas y sus respectivos pesos moleculares.
A diferencia de las muestras de SN de cultivos en grano de maíz, en las muestras de SN de cultivos en CPD, no fue posible visualizar el perfil proteico de las muestras, sin embargo, sí se pudo determinar la presencia de proteasas. Estos resultados se presentan en la Figura 9.

AVEM Avicultores especialistas de México

Figura 9. SDS-PAGE al 10% SN de cultivos A. flavus en CPD.



En el primer y cuarto carril se muestra el marcador de peso molecular (PM). A. Carril representativo del perfil proteico de la muestra por SDS-PAGE al 10% y tinción de plata. B. Carril representativo de la actividad proteolítica de la muestra por SDS- PAGE al 10% copolimerizado con gelatina al 0.2% .

Caracterización bioquímica de proteasas de A. flavus

La caracterización bioquímica de las proteasas identificadas en los sobrenadantes de los distintos medios de cultivo de A. flavus, se realizó empleando inhibidores de actividad proteolítica. Se probaron cuatro inhibidores, PMSF para serina-proteasas, EDTA para metaloproteasas dependientes de Ca, PHMB para cisteína-proteasas y 1,10-fenantrolina para metaloproteasas dependientes de Zn. Los valores de pH de incubación probados fueron 5 y 9, ya que en estos dos pH se observaron variaciones en el perfil proteico.

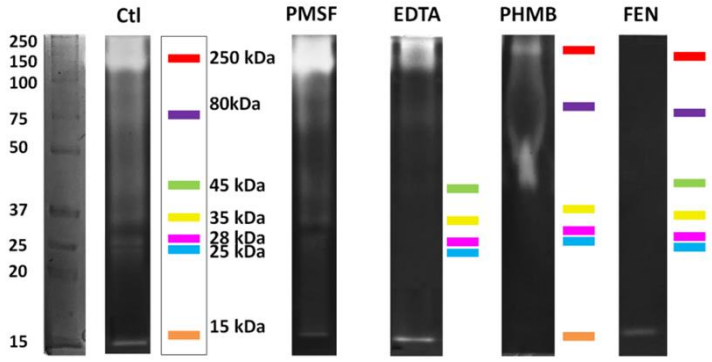
Caracterización bioquímica de proteasas en SN de cultivos en grano de maíz

Las proteasas identificadas en el SN de cultivos en grano de maíz con pesos de 35, 28 y 25 kDa fueron inhibidas por PHMB, 1,10-fenantrolina y EDTA, mientras que aquellas con peso molecular de 250 y 80 kDa fueron inhibidas con PHMB y 1,10-fenantrolina, como se observa en las Figuras 17 y 18, carriles EDTA, PHMB y FEN. Esto permite caracterizarlas como cisteína-metalo proteasas, lo que indicaría tanto la presencia de un residuo de cisteína, como de iones en el sitio catalítico de las enzimas.

La proteasa con peso molecular de 45 kDa únicamente fue inhibida tanto por EDTA como por 1, 10 fenantrolina, como puede apreciarse en las Figuras 17 y 18, carriles EDTA y FEN. Estos hallazgos la clasifican como una metalo proteasa, indicando la existencia de algún ion en su sitio catalítico.

La proteasa identificada con 15 kDa únicamente fue inhibida con PHMB, véase Figura 10, carril PHMB. Esto indica que únicamente posee un residuo del aminoácido cisteína en su sitio activo, lo que la clasifica como cisteína-proteasa

Figura 10. Zimograma al 10% copolimerizado al 0.2% con gelatina con inhibidores de proteasas de SN de cultivos de A. flavus en el día 8 de crecimiento en grano de maíz a pH 5.



En el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular, en el segundo carril se observa un corrimiento control de la actividad proteolítica de la muestra sin inhibidores y a su derecha se esquematiza el bandeo de las proteínas activas y

sus pesos moleculares. En los carriles 3, 4, 5 y 6 se observan las muestras tratadas con los inhibidores PMSF, EDTA, PHMB y 1,10-fenantrolina respectivamente. Las bandas a un costado de cada carril corresponden a las proteínas que fueron inhibidas en cada caso. Carriles representativos de tres ensayos realizados, todos mostraron un bandeo similar.

Figura 11. Actividad de proteasas presentes en SN de grano de maíz después de su tratamiento con inhibidores.

PM	PMSF	EDTA	PHMB	FEN	Clasificación
250 kDa	+ + +	+ + +	++	+	Cisteína- metalo proteasa
80 kDa	+ + +	+ + +	+	+	Cisteína- metalo proteasa
45 kDa	+ + +	+	+ + +	+	Metalo proteasa
35 kDa	+ + +	+	++	+	Cisteína- metalo proteasa
28 kDa	+ + +	+	+	+	Cisteína- metalo proteasa
25 kDa	+ + +	+	+	+	Cisteína- metalo proteasa
15 kDa	+ + +	+ + +	+	+ + +	Cisteína proteasa

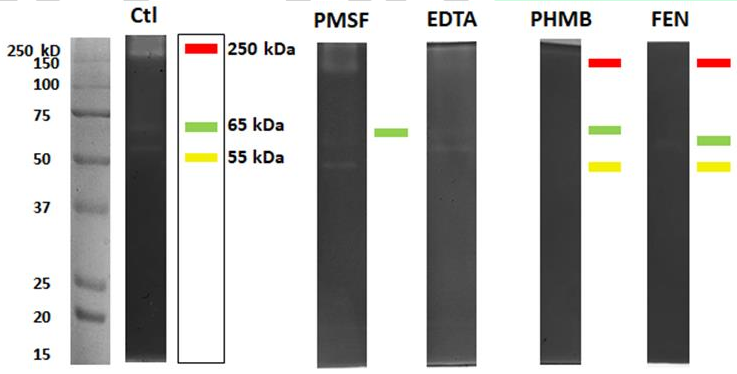
Las cruces indican el grado de actividad de cada una de las proteasas tras su tratamiento con inhibidores (+++ activa, ++ parcialmente activa, + sin actividad). En el recuadro rojo se señalan las proteasas que fueron inhibidas por PHMB y 1, 10-fenantrolina. En el recuadro azul se observan las proteasas inhibidas con EDTA; PHMB y 1, 10-fenantrolina.

Caracterización bioquímica de proteasas en SN de cultivos en CPD

En cuanto a las proteasas identificadas en el SN de cultivos en CPD tanto la proteasa de 250 kDa, como la de 55 kDa se vieron inhibidas parcialmente por EDTA y completamente por PHMB y 1,10-fenantrolina, clasificándose como cisteína-metalo proteasas, es decir, existe tanto la presencia de un residuo de cisteína, como de iones en el sitio catalítico de estas proteasas. Estos resultados pueden observarse en las Figuras 18, carriles EDTA, PHMB y FEN.

Por otro lado, la proteasa de 65 kDa fue inhibida parcialmente por EDTA, y de manera completa tanto por PHMB, 1,10-fenantrolina, y adicionalmente por PMSF, lo que podría indicar la presencia de un residuo de cisteína y de iones en su sitio catalítico. Véase Figura 12, carriles EDTA, PHMB y PMSF.

Figura 12. Zimograma al 10% copolimerizado al 0.2% con gelatina con inhibidores de proteasas de SN de cultivos de A. flavus en el día 4 de crecimiento en CPD a pH 5.



En el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular, en el segundo carril se observa un corrimiento control de la actividad proteolítica de la muestra sin inhibidores, y a su derecha se esquematiza el bandeo de las proteínas activas y sus pesos moleculares. En los carriles 3, 4 , 5 y 6 se observan las muestras tratadas con los inhibidores PMSF, EDTA, PHMB y 1,10-fenantrolina respectivamente. Las bandas a un costado de cada carril corresponden a las proteínas que fueron inhibidas en cada caso. Carriles representativos de tres ensayos realizados, todos mostraron un bandeo similar.

Figura 13. Actividad de proteasas presentes en SN de CPD después de su tratamiento con inhibidores.

PM	PMSF	EDTA	PHMB	FEN	Clasificación
250 kDa	+ + +	+ + +	+	+	Cisteína-metalo proteasa
65 kDa	+ +	+ + +	+	+	Cisteína-metalo proteasa
55 kDa	+ + +	+ + +	+ +	+ +	Cisteína-metalo proteasa

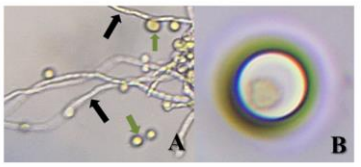
Las cruces indican el grado de actividad de cada una de las proteasas tras su tratamiento con inhibidores (+++ activa, ++ parcialmente activa, + sin actividad). En un recuadro verde se señalan las proteasas que fueron inhibidas por PMSF, PHMB y 1, 10-fenantrolina. Las proteasas de 250 y 55 kDa únicamente fueron inhibidas por PHMB y 1, 10-fenatrolina. Ninguna proteasa fue inhibida por EDTA.

Rompimiento de estructuras fúngicas por choque térmico

Después de analizar las muestras de extracto (EXT) mediante la técnica de SDS-PAGE y no observar la presencia de proteínas, se realizó el tratamiento de choque térmico en las muestras de tres de los días evaluados (días 2, 3 y 6) con el fin de romper la membrana celular de estas estructuras y así liberar las proteínas que pudieran estar contenidas en su interior. Tras el tratamiento, se realizó una inspección microscópica de frotis de la muestra tratada, así como de una muestra sin tratar para su comparación. Al observar ambos frotis, se identificaron diferencias en la morfología de las estructuras de ambas muestras.

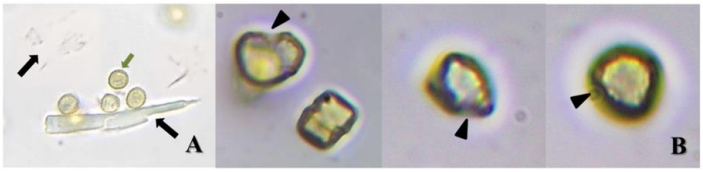
En los frotis de EXT sin tratamiento se observó la presencia de hifas y esporas completas, con una pared celular lisa, intacta y las esporas con una forma perfectamente esférica como puede apreciarse en la Figura 14. Por otro lado, en los frotis de EXT sometido a choque térmico no se encontró la presencia de hifas completas, únicamente se encontraron fragmentos de estas y esporas exhibiendo una pared celular tortuosa, arrugada, de grosor inconsistente y fraccionada, que dio formas irregulares a las esporas, veáse Figura 15. Estas observaciones evidencian el daño provocado en las paredes celulares de estas estructuras, permitiendo así la salida de su contenido al exterior.

Fig 14. Micrografías de estructuras fúngicas presentes en el EXT de cultivos de A. flavus en grano de maíz antes del tratamiento de choque térmico. 100X.



A. Frotis de EXT sin tratamiento de choque térmico. Se observa la presencia de hifas (flecha negra) y esporas (flecha verde) intactas. B. Espora intacta, sin tratamiento térmico. Daniela Gama, 2023.

Fig 15. Micrografías de las esporas presentes en el EXT de cultivos de A. flavus en grano de maíz después del tratamiento de choque térmico. 100X.

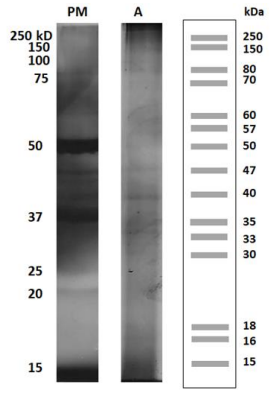


A. Frotis de EXT con tratamiento de choque térmico. Se observan hifas fragmentadas y detritus celulares (flecha negra) y esporas (flecha verde) con daño en su membrana. B. Esporas después de tratamiento de choque térmico. Nótese el daño en la pared celular (cabezas de flecha). Daniela Gama, 2023.

Ensayos preliminares de las muestras de EXT de grano de maíz después del tratamiento de choque térmico

Al analizar las muestras de EXT en los geles de perfil proteico con las muestras inicialmente obtenidas, no se observó algún bandeo. Después del tratamiento de choque térmico, se realizó nuevamente el corrimiento electroforético de las muestras y se tiñó el gel con plata. En este ensayo fue posible evidenciar la presencia de una serie de proteínas de distintos pesos moleculares conformando el perfil proteico de la muestra, el cual se observó constante a lo largo de los 9 días evaluados, como puede observarse en la Figura 16.

Figura 16. SDS-PAGE al 10% EXT tratado con choque térmico de cultivos A. flavus en grano de maíz.



En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular (PM). A. Perfil proteico de la muestra. Carril representativo del gel teñido con plata, todos los carriles del gel mostraron un bandeo similar. A la derecha se esquematiza el patrón de bandeo de las proteínas presentes en la muestra, así como su peso molecular.

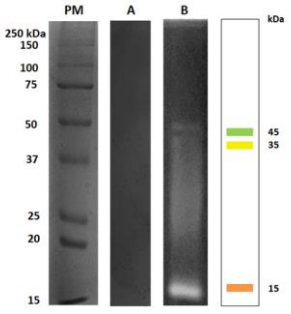
Zimografía

Por último se realizó el corrimiento de los zimogramas de las muestras de EXT de cultivos de grano antes y después del tratamiento de choque térmico con el objetivo de conocer la actividad proteolítica de las muestras. Se emplearon las muestras del día 6 a un pH 5 de incubación ya que fue durante este día y a este valor de pH donde se observó la presencia de todas las proteasas identificadas en cultivos de grano de maíz.

En los zimogramas elaborados con las muestras antes de recibir el tratamiento térmico no se observó ningún bandeo que indicara la degradación del sustrato en el gel por lo que se sometió la muestra a un tratamiento de choque térmico y al realizar los zimogramas nuevamente, se logró evidenciar la presencia de proteínas activas. Se observó un bandeo a los 45, 35 y 15 kDa , como se aprecia en la Figura 17.

Estos resultados demuestran que esta actividad solo fue visible tras el tratamiento de choque térmico, sugiriendo que inicialmente las proteasas se encontraban dentro de las estructuras fúngicas presentes en la muestra (hifas y esporas), y que tras el tratamiento sufrieron alteraciones en su membrana que permitieron su salida.

Figura 17. Zimograma al 10% copolimerizado al 0.2% con gelatina de EXT de cultivos de A. flavus en grano de maíz al día 6 en pH 5.

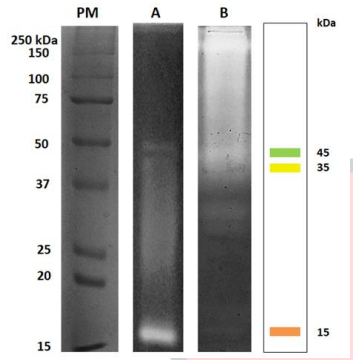


En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular (PM) A. Zimograma de EXT de cultivos en grano de maíz antes del tratamiento térmico. B. Zimograma de EXT de cultivos en grano de maíz después del tratamiento térmico. A la derecha se muestra un esquema del bandeo correspondiente a las proteínas con actividad proteolítica, así como sus pesos moleculares. Carriles representativos de tres ensayos realizados, todos mostraron un bandeo similar.

AVEM
Aviespecialistas de México

Al comparar la actividad observada en estos zimogramas, con los zimogramas de SN de cultivos en grano de maíz, véase Figura 18, puede observarse que las proteasas identificadas en este ensayo con pesos moleculares de 45, 35 y 15 kDa, coinciden con las proteasas que se identificaron en los zimogramas de SN de cultivos del mismo medio, lo que podría sugerir que se trate de las mismas proteasas.

Figura 18. Comparativa de actividad proteolítica de EXT y SN de cultivos de A. flavus al día 6 de crecimiento en grano de maíz a pH 5.



En el primer carril se muestra el marcador de peso molecular (PM). A. Zimograma de EXT con tratamiento de choque térmico, pH de incubación de 5. B. Zimogramas de SN de cultivos en grano de maíz. A la derecha se esquematiza el bandeo correspondiente a las proteasas en común de estas dos muestras, así como sus pesos moleculares. Carriles representativos de tres ensayos realizados, todos mostraron un bandeo similar.

A pesar de que no se realizó la caracterización de la actividad proteolítica de las muestras de EXT de cultivos de grano de maíz después del tratamiento de choque térmico, al observar la presencia de proteasas con el mismo peso molecular de las identificadas y caracterizadas en el SN de cultivos del mismo medio, podría sugerirse que se trata de las mismas proteínas, con una alta probabilidad de expresar la misma naturaleza bioquímica.abcd

Discusión

Aspergillus flavus es un hongo que ha sido sujeto de diversas investigaciones previas debido a su importancia económica y su papel como patógeno en la salud animal y humana. Sin embargo, la identificación y caracterización de sus proteínas de secreción, particularmente sus proteasas, ha sido estudiada en menor medida.

Es por eso que el análisis de su actividad asociada a factores de tiempo y medios en los que crece, resulta relevante para ampliar el conocimiento respecto a su metabolismo y patogenia, tomado en cuenta distintas variables de crecimiento y actividad.

Mediante el conteo de esporas, se llevó a cabo la elaboración de una cinética de producción de esporas, que permite visualizar el comportamiento de A. flavus a lo largo de 10 días de incubación, de acuerdo a la cantidad de conidios que produce. Este método resulta útil para monitorear el crecimiento del hongo, ya que la producción de esporas es reflejo de su desarrollo y crecimiento (22).

La germinación de esporas, la proliferación de micelio y la producción de metabolitos son eventos sucesivos y no independientes (23). Una que vez la espora se expone a condiciones favorables, pasa de una célula latente a una metabólicamente activa, que tras una secuencia ordenada de pasos formará un micelio visible con conidióforos y sus conidios capaces de dar lugar a una nueva generación (22).

Las esporas observadas en el conteo son aquellas que surgen a partir de la culminación de este ciclo y uno nuevo. El incremento en los conteos de estas estructuras es reflejo del desarrollo de la colonia, propagación y formación de nuevos micelios con más conidios (24).

La observación de dos fases de crecimiento logarítmico, indican un patrón de crecimiento de tipo diaúxico. El crecimiento diaúxico describe las fases de crecimiento de un microorganismo a medida que metaboliza una mezcla de sustratos, generalmente azúcares. Durante la primera fase, las células metabolizan preferentemente el sustrato cuyo catabolismo es más eficiente. Después del agotamiento del primer sustrato, las células cambian al segundo sustrato de carbono. A

menudo se registra un período estacionario entre las dos fases de crecimiento, debido al tiempo requerido para producir la enzima necesaria para metabolizar el segundo sustrato (25).

Además de observar el patrón de crecimiento, los resultados obtenidos permiten comparar el desarrollo del hongo en cada uno de los medios que se probaron analizando los valores referentes a la cantidad de esporas producidas (26).

La diferencia que existe entre los valores de esporas/ml. de ambos medios puede derivarse de la composición del medio de cultivo. El CPD es un medio líquido que si bien posee un componente de origen natural (extracto de papa), en su composición química también existen compuestos sintéticos, por lo que se le clasifica como un medio de cultivo semi sintético (27). A diferencia de este, el grano de maíz no solo representa un sustrato de origen natural, sino que igualmente es un huésped vegetal de esta especie (28). En estudios anteriores se ha encontrado que las esporas de hongos patógenos son más fiables cuando se obtienen de un sustrato donde está produciendo infección que cuando se obtienen de hongos que crecen en medios artificiales. Una espora obtenida del huésped presumiblemente posee todo su vigor natural, mientras que una espora obtenida de un hongo que crece en medios artificiales puede haber estado sujeta a una influencia debilitante (29). El vigor de las esporas es un reflejo de su condición fisiológica y puede verse fuertemente influenciado por las condiciones ambientales y nutricionales (30).

Como se observó en la cinética de producción de esporas, cuando A. flavus crece en grano de maíz su metabolismo es más alto, esto se refleja en el vigor que expresa, determinado por una considerable diferencia en la producción de esporas en contraste con la cantidad de esporas que produce en el CPD y también puede observarse este efecto en la diferencia que pudo observarse en el perfil de actividad proteolítica, con la síntesis de una mayor variedad de proteasas cuando A. flavus crece en un medio natural como el grano de maíz.

Se ha observado que cuando se cultiva a A. flavus en medios con fuentes de nitrógeno de bajo peso molecular, se detecta poca o ninguna actividad de proteasa. Lo que explicaría también la diferencia entre el perfil proteíco observado en el SN de cultivos en grano de maíz y de CPD. Los granos de maíz proporcionan una variedad de proteínas de alto peso molecular como globulinas (31), esto podría estar relacionado con la amplia expresión de proteínas activas observadas en el SN de cultivos de A flavus al crecer en grano de maíz.

En el análisis del perfil proteico se empleó la técnica de SDS-PAGE con tinción con azul de Coomassie. Al realizar los geles de poliacrilamida al 10% con 25µl. de muestra (3.2 µg. de PT en SN de cultivos de grano de maíz y 1.4 µg. de PT en SN de cultivos CPD), no se observó un bandeo muy visible, por lo que se repitió el experimento empleando una tinción más sensible.

Cuando la cantidad de proteína se encuentra por debajo de los niveles de detección de la tinción pueden aparecer bandas de proteínas débiles, muy claras o faltantes (32), lo cual puede sugerir que las proteínas presentes en la muestras se encuentran en una muy pequeña cantidad, tan pequeña que el colorante empleado no logra teñir las proteínas al punto que pudieran ser visibles.

En estos casos se debe aumentar la concentración de la muestra o emplear una tinción más sensible. (61). La tinción con azul de Coomassie es más fácil y rápida; sin embargo, los métodos de tinción con plata son más sensibles y por lo tanto, pueden usarse para detectar cantidades más pequeñas de proteína (33).

En el caso de las muestras de SN de cultivos en grano de maíz, al emplear la tinción de plata, sí fue posible visualizar el perfil proteico, lo que coincidiría con la aseveración anterior, y probaría que la cantidad de proteína es tan pequeña que solo pudo ser evidenciada con una tinción muy sensible.

En cuanto a las muestras de SN de cultivos de CPD, no fue posible visualizar el bandeo del perfil proteico de las muestras, aun cuando se empleó una tinción con mayor sensibilidad como la tinción con plata. Estos hallazgos no implican la ausencia de proteína, ya que mediante la cuantificación de PT sí se logró evidenciar su presencia. Es posible que la concentración de PT en la muestra haya sido tan baja que la tinción no fue capaz de detectar y evidenciar las proteínas del SDS-PAGE. Aunque la técnica posea cierta sensibilidad, la sensibilidad de todas las tinciones varía de una proteína a otra (33).

Si bien la medición del total de proteínas no corresponde directamente a la cantidad de proteasas presentes en la muestra, sí constituye parte de las proteínas presentes en el medio, ya que se trata de proteínas extracelulares secretadas al medio de cultivo (34).

Al relacionar estos hallazgos con los valores de proteína total (PT) de la cuantificación de proteína, podemos notar que existe una mayor cantidad de proteína en las muestras de SN de cultivos de grano de maíz, que en el SN de cultivos de CPD, lo que soportaría este supuesto.

Respecto al perfil proteico observado en las muestras de EXT de cultivos de grano de maíz tratado con choque térmico, fue posible determinar la presencia de proteínas de distinto peso molecular, liberadas al líquido de suspensión después de haberse fraccionado la pared celular de las esporas. Estas proteínas al igual que los casos anteriores, puede que se encuentren en una pequeña cantidad debido a que el bandeo observado en el gel teñido con plata, igualmente fue muy tenue.

Por otro lado mediante la técnica de zimografía, se logró evidenciar la presencia de actividad proteolítica, por lo que con el uso de un marcador de peso molecular conocido en los geles copolimerizados con gelatina al 0.2% fue posible identificarlas de acuerdo a su peso molecular.

A diferencia de los geles de perfil proteico SDS – PAGE, en estos se empleó una menor cantidad de muestra (5 µl.) (0.65 µg. de PT en SN de cultivos de grano de maíz y 0.28 µg. de PT en SN de cultivos CPD) ya que en los primeros ensayos, al probar con 25 µl. (3.2 µg. de PT en SN de cultivos de grano de maíz y 1.4 µg. de PT en SN de cultivos CPD) la actividad proteolítica fue tan intensa que el barrido que ocasionaba en los geles no permitía observar un bandeo definido. Esto indica la alta actividad de las proteasas presentes, incluso en cantidades muy bajas.

Respecto a la temperatura de incubación inicialmente se probaron las temperaturas de 22 y 37° C, sin embargo, no se encontraron diferencias en el patrón de actividad proteolítica relacionadas con la temperatura. En los geles incubados a 37 °C se observó una mayor degradación de sustrato, indicando una mayor actividad proteolítica de las proteínas en la muestra. Esta observación es importante ya que 37°C es la temperatura fisiológica. Una temperatura ideal para medir y evaluar las actividades de las enzimas relacionadas con los mamíferos es a 37°C debido a su importancia fisiológica (35). En el caso de las proteasas evaluadas en este trabajo, el observar que estén activas a 37° C sugiere que éstas puedan estar actuando durante la infección en un organismo vivo, ya que se logró observar su actividad y estabilidad a dicha temperatura.

En las muestras de SN de CPD, la proteasa de 65 kDa fue inhibida tanto por PHMB y 1,10-fenantrolina, como por PMSF. Estos resultados no necesariamente indican la presencia de un aminoácido serina y cisteína conjuntos en el sitio catalítico. Es importante mencionar que PMSF en ocasiones también muestra inhibición de cisteína proteasa, por ese motivo, se sugiere emplear otros inhibidores específicos como aprotinina (inhibidor de la serina proteasa) y PHMB (inhibidor de cisteína proteasa) para evidenciar o no la presencia de un residuo de serina (20). La inhibición de las proteasas con PHMB evidencia la presencia de residuos de cisteína en el sitio activo de la enzima (20).

Al observarse inhibición de la actividad con otros inhibidores no específicos para cisteína proteasas, como EDTA y 1,10-fenantrolina que son empleados como inhibidores de metaloproteasas, puede pensarse que existan iones involucrados en el sitio catalítico. Se ha observado interacción de iones con en el aminoácido cisteína de proteasas. El estado de ionización de los grupos Tiol de los residuos de cisteína pueden ser regulados por metales como Zn 2+ y Ca2+ (20, 36).

La 1,10-fenantrolina no solo es capaz de quelar metales coordinados con Zn2+ en el sitio activo, sino que también logra quelar iones de Ca 2+ presentes en el mismo o en otras cadenas, dependiendo del acceso del metal a la 1,10-fenantrolina (37). Mientras que la 1,10-fenantrolina es quelante de Zn y Ca, EDTA es un agente quelante de Ca y Mg, por lo que una reacción de inhibición frente a ambos inhibidores podría atribuirse a la presencia de iones de Ca2+ en el sitio catalítico, ya que ambos inhibidores comparten la capacidad de quelar iones de este compuesto. Este puede ser el caso de las proteasas identificadas con pesos moleculares de 45, 35, 28 y 25 kDa, que fueron inhibidos por EDTA y 1,10 fenantrolina. Aunque no puede descartarse por completo la posibilidad de que existan iones de Zn también. Para descartar esta posibilidad pueden realizarse otras pruebas para revertir la quelación de metales mediante la adición de iones de Zn2+ o Ca 2+ (37).

Por otro lado, aquellas que solo fueron inhibidas por 1,10-fenantrolina, es posible que presenten únicamente iones de Zn en su sitio catalítico, debido a que no mostraron reacción inhibitoria frente a EDTA. Se prefiere la 1,10-fenantrolina como inhibidor de metaloproteasas de zinc, ya que tiene una constante de estabilidad mucho mayor para el zinc (2,5 X 106/M) que para el calcio (3,2/M). Por tanto, 1,10-fenantrolina, 1 mM inactivaría una metaloproteasa incluso en presencia de calcio 10 mM, mientras que esta concentración de 1,10-fenantrolina no elimina el calcio de una proteína que se une al calcio. Por lo tanto, la 1,10-fenantrolina generalmente se usa como diagnóstico para una metaloproteasa de zinc (20).

Estos resultados sugieren que existen residuos de cisteína en aquellas proteasas inhibidas con PHMB y que a su vez existen iones de calcio y zinc participando en su sitio catalítico, probablemente asociado a que el estado de ionización de los grupos tiol de los residuos de cisteína puede ser regulado por metales como Zn2+ y Ca2+ (36). Sin embargo, para

determinar concretamente el tipo de proteasa y tipo de iones presentes, es necesario evaluar otros inhibidores específicos y realizar pruebas para revertir la quelación de iones (37).

La síntesis de proteínas con actividad proteolítica por A. flavus ha sido estudiada previamente por diversos autores. Ramesh y col. observaron que A. flavus produce una metaloproteasa con un peso molecular de 23 kDa (13). Rhodes y col. identificaron una elastasa con una masa molecular de 23 kDa que indica ser una metaloproteasa por sus sensibilidad al inhibidor 1,10-fenantrolina (11). Zhu y col, identificaron una serina-proteasa de 28 kDa y una posible metaloproteasa de 65 kDa con actividad colagenolítica (9).

Por otro lado, Chou y col. lograron identificar una serina proteasa alcalina con peso molecular de 34-kD (10), mientras que Kolattukudy y col., demostraron la existencia de una proteasa de 33 kDa con actividad elastinolítica que determinó como una serina-proteasa por su susceptibilidad de modificación e inactivación por reactivos activos dirigidos a serina e histidina (14). Ramesh y col.. descubrieron que A. flavus secreta una serina proteasas de 36 kDa, identificada como una proteasa alcalina elastinolítica (12).

De acuerdo a sus pesos moleculares, la proteasa de 35 kDa identificada en este trabajo, se asemeja a las serina-proteasas reportadas por Ramesh (12), Chou (10) y Kolattukudy (14) con pesos moleculares de 36, 34 y 32 kDa, respectivamente. Estas proteasas fueron caracterizadas como serina proteasas por su inhibición con PMSF y no se observó inhibición de estas frente a agentes quelantes como EDTA y 1,10 fenantrolina. A pesar de presentar un peso molecular similar, al analizar su actividad frente a inhibidores y el sustrato específico que degradan, no es posible determinar si alguna estas proteasas es la misma proteína activa de 35 kDa identificada en el presente trabajo.

En cambio, la metaloproteasa de 35 kDa identificada por Mellon y Cotty (15) además de coincidir en peso molecular con nuestra proteína de 35 kDa, también presentó actividad colagenolítica e inhibición por los agentes quelantes EDTA y 1,10 fenantrolina. Así mismo, este autor reporta que esta proteasa fue secretada inicialmente como una proteína de 35 kDa, que posteriormente se convirtió en una proteína de 23 kDa debido a un proceso de autolisis (15). Nuestros resultados apoyan este hallazgo, ya que de igual forma se identificaron dos proteasas de 28 y 25 kDa con las mismas características bioquímicas a la proteasa de 35 kDa encontradas en el presente trabajo. La proteína de 25 kDa posee un peso molecular similar a los de las proteasas reportadas por Rhodes (11) y Ramesh (13), mientras que la proteasa de 28 kDa identificada en este trabajo posee el mismo peso molecular que la reportada por Zhu (9). Analizando los resultados de estos estudios previos en conjunto con nuestros resultados, es posible que las proteasas de 23, 28 y 25 kDa que se han identificado sean, en efecto, producto de la autolisis de una proteasa de 35 kDa, con el contraste de que nuestras proteasas de 28 y 25 kDa solo se mostraron activas en un pH 5, y sí mostraron inhibición por PHMB, un inhibidor de cisteína-proteasas. Zhu observó inhibición de la actividad proteolítica con N-etilmaleimida (NEM); sin embargo, no caracterizó como cisteína-proteasas a ninguna de las dos proteasas identificadas en su ensayo (9). Por otro lado, Mellon empleó E-64 como inhibidor de cisteína-proteasas, pero no observó el efecto inhibitorio de este compuesto sobre las proteasas que reportó (15).

Se observa una situación similar respecto a la proteasa de 65 kDa identificada en este trabajo, la cual coincide con la proteasa del mismo peso molecular reportada por Zhu (9), ambas fueron inhibidas por EDTA y 1,10 fenantrolina. En su ensayo Zhu reporta inhibición por el sustrato específico para cisteína proteasas NEM, más no caracteriza a esta proteasa como cisteína-proteasa, a diferencia de nuestros resultados donde sí se determinó la presencia de un residuo de cisteína en el sitio catalítico de la enzima tras su inhibición con PHMB.

La similitud entre los pesos moleculares de proteasas reportadas en los estudios anteriores y las proteasas identificadas en este trabajo con pesos moleculares de 35, 28, 25 y 65 kDa, contrasta con las diferencias que se observaron en su naturaleza bioquímica. Esta variación en la conformación de su sitio catalítico puede estar relacionada con la composición del medio en el que es crecido A. flavus. Zhu en 1990, reportó una diferencia en la naturaleza bioquímica de las proteasas de 28 y 65 kDa que logró identificar cuando el hongo creció en distintos medios de cultivo. Los resultados de los estudios de inhibidores, indicaron que cuando A. flavus se cultivó en medio líquido M9 con proteína de leche, la actividad fue sensible a los agentes quelantes (EDTA y 1,10 fenantrolina), pero insensible a PMSF y NEM, que indican solo actividad metaloproteasa. Sin embargo, cuando se cultivó en M9 con colágeno o elastina como fuente de nitrógeno, parece haber una mezcla de actividades que son sensibles a los agentes quelantes, a PMSF y a NEM, lo que indicaría que actividades metalo-serina y cisteína proteasa están presentes. Las cantidades relativas de estas actividades parecen variar en diferentes cultivos de colágeno y elastina (9). Esta observación sugiere que la presencia de un residuo del aminoácido serina, o en su defecto, un residuo de cisteína en el sitio catalítico de las proteasas, como se observó en los resultados de

este trabajo, dependerá de la fuente de nitrógeno presente en el medio de cultivo. Haber empleado medios de cultivo distintos a los empleados anteriormente en otras investigaciones, podría ser la razón por la cual se caracterizaron a las proteasas de 65, 35, 28 y 25 kDa como cisteína proteasas durante esta investigación.

Anteriormente, no se había identificado actividad proteolítica en cultivos de A. flavus en un medio natural. Se ha observado que al enriquecer el medio con un nutriente específico, el hongo es capaz de producir una proteasa capaz de degradarlo. Algunos ejemplos son los experimentos como los realizados por Ramesh (12, 13), Rhodes (11) y Kolattukudy (14), donde se enriqueció un medio de cultivo sintético con un sustrato específico (elastina) con el propósito de estimular al hongo para la producción de una proteasa que lo degradara. En el presente estudio no se adicionó al medio de cultivo un sustrato específico, y bajo esta condición se lograron identificar proteasas sintetizadas por el hongo capaces de degradar colágeno.

A flavus ha mostrado poseer actividad proteolítica contra una variedad de sustratos. Mellon y col. (15) demostraron que la proteasa de A. flavus con un peso molecular de 23 o 35 kDa es capaz de degradar sustratos naturales de origen vegetal como la proteína de almacenamiento de semilla de algodón, además de sustratos naturales de origen animal como la elastina, colágeno, ovoalbúmina y albúmina de suero bovino. La variedad de sustratos que puede degradar esta proteasa, sugiere que esta no solo es una proteasa inespecífica, sino que A. flavus posee la capacidad de sintetizar proteasas inespecíficas capaces de degradar sustratos de origen animal y vegetal, y esta proteína podría no ser el único caso.

Se ha planteado el posible doble papel de las proteasas extracelulares en los hongos filamentosos, por una parte estas proteasas permiten descomponer moléculas de proteínas complejas en nutrientes utilizables, y a su vez, actúan como factores de virulencia en los procesos patogénicos al digerir la matriz extracelular facilitando su penetración en los tejidos (1). Esto apoya la idea de que A. flavus puede sintetizar proteasas inespecíficas que le permitan realizar esta doble función para su supervivencia e invasión de tejido como parte de su patogenia.

La principal fuente de contagio de la aspergilosis es la inhalación de esporas provenientes de micelios adaptados y en crecimiento sobre sustratos vegetales como granos o cereales contaminados (38, 39), que probablemente no hayan tenido contacto con los tejidos de animales o humanos y por lo tanto no hayan pasado por un proceso de adaptación que les permita sintetizar proteínas contra sustratos específicos.

Es por esto que, tras el cultivo de A. flavus en medios de origen vegetal como el grano de maíz (medio natural) y en CPD (medio semisintético), el sustrato específico empleado en la zimografía de esta investigación fue gelatina. Este sustrato se compone de colágeno desnaturalizado, es decir, colágeno que se ha degradado en sus componentes peptídicos por medio de enzimas, calor o pH (40). El colágeno es una de las proteínas estructurales que componen la lámina basal y tejido intersticial que A. flavus debe penetrar para colonizar los tejidos (1). Además junto con la elastina, forma parte de los principales elementos del tejido conectivo presente en el pulmón y córnea, dos de los principales órganos blanco de A. flavus (1, 41, 42) . Esto indica que A flavus no solo requiere de la síntesis de una proteasa con actividad elastinolítica, sino de una proteasa con la capacidad de degradar tanto elastina como colágeno, ya que este segundo compuesto se encuentra presente, incluso en mayor proporción en el tejido conectivo de pulmón (42). La síntesis de una proteasa con actividad proteolítica sobre ambos compuestos le permitirá al microorganismo asegurar su penetración en el tejido (41).

Ramesh y col (12, 13)., Rhodes y col (11) y Kolattukudy y col(14) han empleado como sustrato en el medio de cultivo la elastina, y demostraron la producción de elastasas extracelulares con un peso molecular de 23 kDa liberadas por conidios fúngicos en germinación en medio de cultivo con elastina (11-13) y de una elastasa de 32 kDa en el pulmón huésped cuando crece en presencia de elastina. Estos hallazgos demuestran que A. flavus posee una actividad elastinolítica, la cual forma parte de sus factores de virulencia involucrados en la aspergilosis invasiva (14). Por otra parte, Mellon reporta la degradación de una variedad de sustratos, entre ellos, elastina y colágeno por la proteína de 35 o 23 kDa. identificada en su estudio (15).

Como se ha discutido anteriormente, en el presente trabajo se encontraron proteasas con pesos moleculares y características bioquímicas similares, lo que podría sugerir que las proteasas identificadas en este trabajo con pesos moleculares de 35, 28, y 25 kDa podrían tener la capacidad de degradar otros sustratos además del colágeno, por ejemplo la elastina. El análisis de las proteasas identificadas en este trabajo no solo ayuda a sostener esta teoría, sino que la complementa al evidenciar su actividad colagenolítica que podría acompañar a su capacidad elastinolítica demostrada en otros estudios, no obstante, futuros ensayos deben realizarse para determinar si esta proteasa es inespecífica al probar su actividad proteolítica frente a distintos sustratos.

Los resultados de este trabajo vuelven a este estudio uno de los primeros en los que se ha evidenciado la capacidad de A. flavus para sintetizar factores de virulencia, como proteasas, a pesar de no haber entrado en contacto con este sustrato durante su crecimiento, además de haberse empleado un medio de cultivo natural de origen vegetal como es el grano de maíz.

A pesar de haberse identificado una serie de proteasas de A flavus con anterioridad, se observan variaciones en su naturaleza bioquímica, particularmente en su actividad tras el tratamiento con inhibidores, por lo que resultaría útil emplear otra variedad de inhibidores, en esta ocasión más específicos, para futuras investigaciones.

Por otra parte, no se tiene antecedente de proteasas sintetizadas por A. flavus con pesos moleculares de 250, 80, 55, 50, 45 y 15 kDa como las identificadas el presente trabajo, lo que indica que fue posible identificar nuevas proteasas de A. flavus que podrían actuar en matriz extracelular o membrana basal in vivo durante la patogenia de la enfermedad.

Referencias

1. Krishnan, S., Manavathu, E. K., & Chandrasekar, P. H. (2009). Aspergillus flavus: an emerging non-fumigatus Aspergillus species of significance. Mycoses, 52(3), 206-222. doi:10.1111/j.1439-0507.2008.01642.
2. . Hadrich I, Amouri I, Neji S, Mahfoud N, Ranque S, Makni F, et al. Genetic structure of Aspergillus flavus populations in human and avian isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013;32(2):277-82.
3. Garcia-Vidal C, Carratala J. [Pathogenesis of invasive fungal infections]. Enferm Infecc Microbiol Clin. 35 2012;30(3):151-8.
4. Rani K, Rachita R, Datt S. Review on latest overview of proteases. International Journal of Current Life 37 Sciences. 2012;2(1):12-8.
5. Hauck, R., Cray, C., & Franca, M. (2020). Spotlight on avian pathology: aspergillosis. Avian Pathol, 49(2), 115-118. doi:10.1080/03079457.2019.1696946
6. Brugere-Picoux, J., Vaillancourt, J. P., Shivaprasad, H. L., Venne, D., & Bouzouaia, M. (2015). Manual de Patología Aviar. París, Francia: OIE.
7. Cherif, G., Hadrich, I., Harrabi, M., Kallel, A., Fakhfekh, N., Messaoud, M., Ranque, S. (2023). Aspergillus flavus genetic structure at a turkey farm. Vet Med Sci, 9(1), 234-241. doi:10.1002/vms3.1015
8. Yu, J., Whitelaw, C. A., Nierman, W. C., Bhatnagar, D., & Cleveland, T. E. (2004). Aspergillus flavus expressed sequence tags for identification of genes with putative roles in aflatoxin contamination of crops. FEMS Microbiol Lett, 237(2), 333-340. doi:10.1016/j.femsle.2004.06.054
9. Zhu, W. S., Wojdyla, K., Donlon, K., Thomas, P. A., & Eberle, H. I. (1990). Extracellular proteases of Aspergillus flavus. Fungal keratitis, proteases, and pathogenesis. Diagn Microbiol Infect Dis, 13(6), 491-497. doi:10.1016/0732-8893(90)90081-6
10. Chou, H., Lin, W. L., Tam, M. F., Wang, S. R., Han, S. H., & Shen, H. D. (1999). Alkaline serine proteinase is a major allergen of Aspergillus flavus, a prevalent airborne Aspergillus species in the Taipei area. Int Arch Allergy Immunol, 119(4), 282-290. doi:10.1159/000024205
11. Rhodes, J. C., Amlung, T. W., & Miller, M. S. (1990). Isolation and characterization of an elastinolytic proteinase from Aspergillus flavus. Infect Immun, 58(8), 2529-2534. doi:10.1128/iai.58.8.2529-2534.1990
12. Ramesh, M. V., Sirakova, T., & Kolattukudy, P. E. (1994). Isolation, characterization, and cloning of cDNA and the gene for an elastinolytic serine proteinase from Aspergillus flavus. Infect Immun, 62(1), 79-85. doi:10.1128/iai.62.1.79-85.1994
13. Ramesh, M. V., Sirakova, T. D., & Kolattukudy, P. E. (1995). Cloning and characterization of the cDNAs and genes (mep20) encoding homologous metalloproteinases from Aspergillus flavus and A. fumigatus. Gene, 165(1), 121-125. doi:10.1016/0378-1119(95)00434-8
14. Kolattukudy, P. E., Lee, J. D., Rogers, L. M., Zimmerman, P., Ceselski, S., Fox, B., Copelan, E. A. (1993). Evidence for possible involvement of an elastolytic serine protease in aspergillosis. Infect Immun, 61(6), 2357-2368. doi:10.1128/iai.61.6.2357-2368.1993
15. Mellon, J. E., & Cotty, P. J. (1996). Purification and partial characterization of an elastinolytic proteinase from Aspergillus flavus culture filtrates. Applied Microbiology and Biotechnology, 46(2).
16. Girard, V., Dieryckx, C., Job, C., & Job, D. (2013). Secretomes: the fungal strike force. Proteomics, 13(3-4), 597-608. doi:10.1002/pmic.201200282
17. Mendez-Albores, A., Arambula-Villa, G., Loarca-Pina, M. G., Castano-Tostado, E., & Moreno-Martinez, E. (2005). Safety and efficacy evaluation of aqueous citric acid to degrade B-aflatoxins in maize. Food Chem Toxicol, 43(2), 233-238. doi:10.1016/j.fct.2004.09.009
18. Righetti, P. G., & Boschetti, E. (2013). Detailed methodologies and protocols. In P. G. Righetti & E. Boschetti (Eds.), Low Abundance Proteome Discovery (pp. 263-319): Elsevier.
19. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72, 248-254. doi:10.1006/abio.1976.9999
20. Ramirez Rico, G., Martinez-Castillo, M., Gonzalez-Ruiz, C., Luna-Castro, S., & de la Garza, M. (2017). Mannheimia haemolytica A2 secretes different proteases into the culture medium and in outer membrane vesicles. Microb Pathog, 113, 276-281. doi:10.1016/j.micpath.2017.10.027
21. Ramirez-Rico, G., Martinez-Castillo, M., Avalos-Gomez, C., & de la Garza, M. (2021). Bovine apo-lactoferrin affects the secretion of proteases in Mannheimia haemolytica A2. Access Microbiol, 3(10), 000269. doi:10.1099/acmi.0.000269
22. Gougouli, M., & Koutsoumanis, P. K. (2013). Relation between germination and mycelium growth of individual fungal spores. International Journal of Food Microbiology, 161, 231-239.
23. Aldars-Garcia, L., Sanchis, V., Ramos, A. J., & Marín, S. (2017). Time-course of germination, initiation of mycelium proliferation and probability of visible growth and detectable AFB1 production of an isolate of Aspergillus flavus on pistachio extract agar. Food Microbiology, 64, 104-111.
24. Li, C., Jia, S., Rajput, S. A., Qi, D., & Wang, S. (2022). Transcriptional stages of conidia germination and associated genes in Aspergillus flavus: an essential role for redox genes. Toxins, 14.

25. . Aziza, M., Amrane, A. (2012). Diauxic Growth of Geotrichum candidum and Penicillum camembertii on amino acids and glucose. Brazilian Journal of Chemical Engeneering, 29(02), 203-210.
26. Faria, M., Lopes, R. B., Souza, D. A., & Wraight, S. P. (2015). Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. J Invertebr Pathol, 125, 68-72. doi:10.1016/j.jip.2014.12.012
27. Garcés, E., Correa, M., Coba, B., Orozco, M., Zapata, A. C., Anacona, A., & Sabogal, S. P. (2003). Morfología y clasificación de los hongos. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
28. Chang, P. K., Horn, B. W., Abe, K., & Gomi, K. (2014). Aspergillus: Introduction. In C. A. Batt (Ed.), Encyclopedia of Food Microbiology (pp. 77–82).
29. Doran, W. L. (1992). Effect of external and internal factors on the germination of fungous spores. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 49(11), 313-340.
30. Jin, X., Hayes, C. K., Harman, G. E. (1992). Principles in the development of biological control systems employing trichoderma species against soil-borne plant pathogenic fungi. In G. F. Leatham (Ed.), Frontiers in Industrial Mycology (pp. 174-195). New York, NY: Champman & Hall.
31. Shewry, P. R., & Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. J Exp Bot, 53(370), 947-958. doi:10.1093/jexbot/53.370.947
32. Biotech, H. (2010). Troubleshooting Sodium Dodecyl Sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) In H. Biotech (Ed.), (Vol. 04-2010). www.hycultbiotech.com
33. Gallagher, S. R., & Sasse, J. (2012). Staining proteins in gels. In current protocols esssential laboratory techniques (2009/01/27 ed., pp. 7.4.1 - 7.4.14): Wiley Online Library.
34. Ward, O. P. (2011). Proteases. In M. M. Y. (Ed.), Comprehensive Biotechnology (2nd ed ed., pp. 571-582): Elsevier.
35. Duggan, P. F. (1979). Activities of enzymes in plasma should be measured at 37 degrees C. Clin Chem, 25(3), 348-352.
36. Bulaj, G., Kortemme, T., & Goldenberg, D. P. (1998). Ionization-reactivity relationships for cysteine thiols in polypeptides. Biochemistry, 37(25), 8965-8972. doi:10.1021/bi973101r
37. Nam, K. H. (2021). Structural analysis of metal chelation of the metalloproteinase thermolysin by 1,10-phenanthroline. J Inorg Biochem, 215, 111319. doi:10.1016/j.jinorgbio.2020.111319
38. Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., & Denning, D. W. (2007). Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology, 153(Pt 6), 1677-1692. doi:10.1099/mic.0.2007/007641-0
39. Pasqualotto, A. C. (2009). Differences in pathogenicity and clinical syndromes due to Aspergillus fumigatus and Aspergillus flavus. Med Mycol, 47 Suppl 1, S261-270. doi:10.1080/13693780802247702
40. Harris, R. B., Fonseca, F. L. A., Sharp, M. H., & Ottinger, C. R. (2022). Functional Characterization of Undenatured Type II Collagen Supplements: Are They Interchangeable? J Diet Suppl, 19(6), 717-732. doi:10.1080/19390211.2021.1931621
41. Dixon, D. M., & Walsh, T. J. (1992). Human pathogenesis. In J. W. Bennett & M. A. Klich (Eds.), Aspergillus: Biology and Industrial Applications: Butterworth-Heinemann.
42. Mercer, R. R., & Crapo, J. D. (1990). Spatial distribution of collagen and elastin fibers in the lungs. J Appl Physiol (1985), 69(2), 756-765. doi:10.1152/jappl.1990.69.2.756.

AVEM
Aviespecialistas de México

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae* EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y DESARROLLO DEL SISTEMA DIGESTIVO EN POLLO DE ENGORDA

Ingrid Martinez, Jorge Rubio, Miliane Alves da Costa, Gilson Gomes, Alexandre Barbosa
AB Vista, Marlborough, UK.
ingrid.martinez@abvista.com

Resumen
Se evaluó la inclusión de levadura viva de *Saccharomyces Cerevisiae en la producción de pollo de engorde de 42 días con una inclusión de 250 g/tonelada. Las dietas fueron a base de maíz y pasta de soya. Se midieron parámetros de ganancia de peso y consumo semanal, de peso de órganos digestivos a los 42 días, y anticuerpos vacunales en sangre a los 21 días. La inclusión de levadura viva de Saccharomyces Cerevisiae* redujo la conversión alimenticia en 2 puntos, incremento el peso de ciegos y la producción de anticuerpos vacunales.
Palabras Clave: *Saccharomyces Cerevisiae, levadura viva, pollo de engorde, parámetros productivos, peso de tracto digestivo.*

Introducción
Las levaduras vivas actúan a nivel intestinal cambiando el perfil de concentración de oxígeno del tracto gastrointestinal. Este efecto promueve la presencia de microorganismos benéficos, incluidos aquellos capaces de degradar las porciones fibrosas del alimento. De esta manera, se incrementa los procesos fermentativos en el tracto digestivo y la producción de ácidos grasos de cadena corta [1].

Previamente se ha demostrado la capacidad de un producto a base de levadura viva de *Saccharomyces cerevisiae* (Vistacell® - AB Vista Feed Ingredients) en incrementar las poblaciones la familia *Lactobacillaceae* y en reducir la presencia del grupo *Clostridiaceae* [2]. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de Vistacell® en el desempeño productivo, desarrollo del tracto digestivo y producción de anticuerpos vacunales para Newcastle en pollo de engorda.

Materiales y Métodos
756 pollos de engorda de la línea Cobb 430 se distribuyeron en 2 tratamientos: un grupo control sin la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* y otro con la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* a 250 g/tonelada. Cada tratamiento tenía 14 réplicas de 27 aves cada una. El experimento se llevó a cabo en una unidad experimental en India durante el periodo de verano (temperatura y humedad de unidades máxima de 41/86 y mínima de 23/36). Las dietas, en harina, fueron elaboradas a base de maíz y pasta de soya con el siguiente perfil nutricional: inicio, 1-14 días - 3,050 kcal de EMAn/kg y 1.25% de Lisina digestible (Lis_d); crecimiento, 15-28 días - 3,100 kcal de EMAn/kg y 1.10% de Lis_d; y finalización de 29-42 días con 3,150 kcal de EMAn/kg y 1.00% de Lis_d. Las variables de desempeño (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y factor de eficiencia europeo) fueron medidos semanalmente.

A los 42 días, el peso de molleja, ciego e intestino fueron obtenidos, mientras a los días 28 y 42 de edad se midieron los títulos vacunales para Newcastle. Los datos fueron analizados estadísticamente para un estudio completamente aleatorizado, con comparación de medias usando la prueba de t de *Student* y un nivel de significancia de 5%. En el presente trabajo se discutió la tendencia estadística de los resultados cuando el valor de *p* era menor de 0.10.

Resultados y Discusión
Del día 0 al 7 de edad, la inclusión de la levadura viva mejoró el consumo de alimento en 4 gramos ($p<0.05$), y presentó una tendencia sobre la ganancia de peso de 2 gramos por ave ($p=0.08$). Al finalizar el periodo de la prueba, existió una tendencia de mayor ganancia de peso de 45 g ($p=0.08$) para la levadura viva al tener en promedio un peso de 2.295 kg el tratamiento con inclusión vs. 2.250 kg el tratamiento control. La conversión de alimento fue menor con la adición de levadura viva de *Saccharomyces cerevisiae* por 2 puntos (1.57 vs 1.55) ($p=0.003$). El índice de eficiencia europeo se incrementó con el uso de la levadura viva, pasando de 306 a 318 puntos ($p=0.039$).

Las aves que fueron alimentadas con la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae*, presentaron una tendencia a tener una molleja más pesada (p=0.068) y presentaron un peso de ciego mayor (p=0.034). La levadura viva de *Saccharomyces cerevisiae* actuó como agente modulador de microbiota, promoviendo procesos fermentativos dentro del tracto digestivo y permitiendo el desarrollo de órganos como la molleja y ciego. La inclusión de la levadura viva incrementó los niveles de anticuerpos para Newcastle en sangre de las aves muestreadas a los 28 días (p<0.001); a los 42 días no se presentaron cambios significativos (p>0.01). Las propiedades probióticas demostradas por microorganismos como la levadura viva de *Saccharomyces cerevisiae*, promueve la salud en general de las aves y permite el buen funcionamiento de las funciones inmunológicas básicas, como la producción de anticuerpos.

Conclusión

En conclusión, el uso de levadura viva (Vistacell®) mejoró el desempeño productivo de pollo de engorda de 42 días, reduciendo la conversión alimenticia en 1.25% y mostrando un incremento en el peso de ciegos en un 18% respecto al peso vivo.

Referencias

[1] Lu, H., Yan, H., O'Neill, H. M., Bradley, C. L., Bedford, M., Wilcock, P., & Ajuwon, K. M. (2016). Effect of xylanase and live yeast supplementation on growth performance and gut microflora diversity of growing pigs. *Journal of Animal Science*, *94*, 447-447.

[2] González-Ortiz, G., Callegari, M. A., Wilcock, P., Melo-Duran, D., Bedford, M. R., Oliveira, H. R., ... & da Silva, C. A. (2020). Dietary xylanase and live yeast supplementation influence intestinal bacterial populations and growth performance of piglets fed a sorghum-based diet. *Animal Nutrition*, *6*(4), 457-466.

AVEM
Aviespecialistas de México

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDA ALIMENTADOS CON DIETAS CON DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA Y ENERGÍA Y ACEITES ESENCIALES

Jorge Hiram García García1, Jorge Loredo Osti1*, Jaime Salinas Chavira1, Flaviano Benavides González1, Enrique Corona Barrera1, Elvia Margarita Romero Treviño2 y Fidel Infante Rodríguez1
1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia "Dr. Norberto Treviño Zapata", Universidad Autónoma de Tamaulipas.
2 Instituto Tecnológico de Altamira, Tamaulipas.
jloredo@docentes.uat.edu.mx

Resumen

Este estudio evaluó el desempeño productivo de pollos de engorda alimentados con dietas en diferentes concentraciones de nutrientes y aceites esenciales (AE) durante la estación cálida en condiciones de trópico seco. Se asignaron doscientos pollos Ross 308 de 1 día de edad en un diseño factorial aleatorio de 2×2. Los tratamientos consistieron en dos dietas (estándar y reducida) y dos niveles de AE (0 ppm y 200 ppm). Las dietas reducidas (RED) tenían un 10% menos de energía y un 10% menos de proteínas que las dietas estándar (STD). El estudio contó con dos fases, inicial y final, de 21 días cada una. En la fase inicial, la ganancia de peso fue mayor (P<0,01) en las aves alimentadas con STD que con RED. El consumo de alimento, la ganancia de peso y el índice de conversión alimenticia no fueron influenciados (P≥0.14) por los AE. En la fase de finalización, se observó un mayor consumo de alimento (P=0,02) y aumento de peso (P=0,04) en aves alimentadas con dietas STD sobre dietas RED. La tasa de conversión alimenticia fue similar (P=0,97) entre los animales de las dietas STD y RED. El consumo de alimento, la ganancia de peso y el índice de conversión alimenticia no fueron influenciados (P≥0.14) por los AE. A lo largo del estudio (1-42 días), se observó un mayor consumo de alimento (P=0,02) y aumento de peso (P<0,01) en las aves alimentadas con las dietas STD que con las dietas RED. El índice de conversión alimenticia fue similar (P=0,51) entre las aves que recibieron dietas STD y RED. Los pollos de engorda alimentados con dietas suplementadas con AE tuvieron (P≥0,08) una mejor tasa de conversión alimenticia que los animales sin suplementación con AE.

Palabras clave: Pollos de engorda, aceites esenciales, parámetros productivos.

Introducción

El consumo de proteína cárnica en el mundo se encuentra encabezada por el pollo de engorda, en México tan sólo en 2021, el consumo per cápita osciló en 36 kg [1]. Actualmente la producción de carne de pollo muestra un déficit en la relación producción – consumo, una de las causas que complica la producción local de esta especie son los costos de alimentación, principalmente por lo volátil de los precios de granos e insumos para balancear las dietas [2].

Una de las alternativas para mejorar la acción de las dietas es el uso de aditivos entre los que se encuentran las fitomoléculas; esta opción tiene como objetivo omitir la incorporación de promotores de crecimiento sintéticos, y de esta manera mejorar las condiciones de producción. Dentro de las opciones que se tienen sobre el uso de aditivos a partir de fitomoléculas, se encuentran los aceites esenciales, entre ellos, extractos de orégano y canela que de manera *in vitro* han demostrado tener principios anticoccidiarios, antioxidantes, antimicrobianos, entre otros atributos nutracéuticos que pudieran influir de manera positiva en los parámetros productivos; los efectos antimicrobianos estudiados, se asocian a metabolitos secundarios específicamente carvacrol y cinamaldehído presentes en los extractos mencionados [3].

Los aceites esenciales tienen efecto en el aparato digestivo de los animales de producción, al tener la cualidad de aumentar la superficie de las vellosidades intestinales favoreciendo la absorción de nutrientes. Es importante destacar que el mayor aprovechamiento sobre variables productivas por efecto de estos aditivos se ha observado mejor en pollos de engorda y cerdos en relación con otras especies [4], dado que estos metabolitos dañan la membrana celular de microorganismos patógenos evitando su propagación en el tracto digestivo [5].

De acuerdo con March y Eiros (2013) [6], una de las formas de acción se centra en la interrupción del *quorum sensing* de bacterias, evitando así que estas conozcan la concentración de su ambiente intestinal y se pongan en marcha la expresión de un conjunto determinado de genes, desarrollando así una respuesta concreta y de forma simultánea.

Al igual que otros aditivos, existen desventajas para el uso del extracto de orégano y canela, ya que sus metabolitos secundarios (carvacrol y cinamaldehído) son inestables al aire y a temperaturas elevadas, lo que los hace muy volátiles, de ahí que la mejor respuesta a parámetros de producción se obtiene cuando se utiliza en un sistema de microencapsulación basado en biopolímeros con la capacidad de conservar y aprovechar mejor sus propiedades, aún en temperaturas cálidas, fuera de la zona de confort de los pollos de engorda [4].

Además de la importancia de la microencapsulación, se ha buscado definir la dosis correcta de inclusión en dietas para tener un efecto positivo en la producción avícola; por ejemplo, se ha demostrado que su inclusión, específicamente extracto de orégano (*Origanum vulgare*) si no se encuentra encapsulado y se usan dosis por debajo de las 400 ppm en alimentos balanceados no existe una mejora en los parámetros productivos [5]. Por otro lado, se ha demostrado que este mismo producto microencapsulado, requiere una dosis de solo 200 ppm para generar un impacto positivo en el crecimiento, la inmunidad y la salud intestinal de pollos de engorda [7].
Debido a los anterior, la presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de los aceites esenciales incluidos en dietas estándar y reducidas en nutrientes para pollos de engorda sobre variables productivas en época cálida (verano) en el estado de Tamaulipas, y determinar también si este manejo nutricional puede tener impacto en la mortandad de pollos de engorda en el ciclo productivo teniendo en cuenta las condiciones de calor extremo sobre la especie evaluada.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la granja avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, ubicada en Ciudad Victoria, Tamaulipas (zona subtropical del noreste de México). El sitio está ubicado a 23°44’06”N y 97°09’50”O, a una altitud de 323 msnm. La precipitación media anual es de 926 mm y la temperatura promedio anual es de 24 °C (INEGI, 2017). Estas características climáticas son típicas de los subtrópicos secos.

Animales y dietas

Todos los procedimientos de cuidado y manejo de los animales fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (referencia CBBA_10_2023). Se adquirieron de un criadero comercial 200 pollos de engorda sexados (100 machos y 100 hembras) Ross 308 de un día de edad que pesaban 44,5 ± 1,14 g (media ± DE). El experimento comenzó el 29 de junio y duró hasta el 10 de agosto de 2023. En este período la temperatura y humedad relativa promedio fueron 32,0±1,12 °C y 56,9±5,20%, respectivamente. Cada tratamiento (dieta) incluyó 50 aves (25 machos y 25 hembras) asignadas aleatoriamente con cinco réplicas de diez animales (cinco machos y cinco hembras) cada una. Durante todo el experimento, las aves se alojaron en 20 jaulas con paja de pasto picado (partículas de 2,5 cm) como material de cama, donde se les proporcionó veinticuatro horas de luz al día. Cada corral contaba con un bebedero automático y un comedero de llenado manual. La asignación de espacio fue de diez aves por metro cuadrado. Se ofreció agua y alimento *ad libitum*. Las aves fueron vacunadas el día siete del ensayo contra la viruela aviar (punción de ala) con una cepa homóloga.
Los pollos se criaron siguiendo la práctica comercial estándar. Se utilizaron dos fases de alimentación: 1–21 (inicio) y 22–42 días de edad (finalización). Hubo cuatro tratamientos (T) para las dietas de inicio y finalización. El experimento consideró dos dietas con diferentes composiciones de nutrientes, una dieta estándar y una dieta reducida en nutrientes. El estudio también consideró dos niveles de inclusión (0 ppm y 200 ppm) de aceites esenciales (AE) en las dietas. El experimento consistió en cuatro dietas de tratamiento experimental (T): T1 (dieta estándar + 0 ppm de AE); T2 (dieta estándar + 200 ppm de AE); T3 (dieta reducida en nutrientes + 0 ppm de AE); y T4 (dieta reducida en nutrientes + 200 ppm de AE). Se utilizó una mezcla de aceites esenciales microencapsulados compuesta por cinamaldehído más carvacrol (EW nutrición, distribuida en México). La dieta reducida en nutrientes tenía un 10% menos de proteínas y un 10% menos de energía metabolizable respecto a la dieta estándar. Las dietas se prepararon de acuerdo con las recomendaciones del National Research Council [8] para aves de corral (cuadros 1 y 2).
El peso corporal y el consumo de alimento se midieron semanalmente y se calculó el índice de conversión alimenticia (ICA; consumo de alimento, g/ganancia de peso, g).

Cuadro 1. Composición de ingredientes y nutrientes de las dietas experimentales (%), para la fase inicial (1-21 días de edad)

	Dieta estándar		Dieta reducida	
Ingredientes	0 ppm AE	200 ppm AE	0 ppm AE	200 ppm AE
Sorgo molido	54.10	54.08	65.20	65.18
Pasta de soya	37.40	37.40	30.50	30.50
Aceite vegetal (AV)	4.50	4.50	0.30	0.30
Aceites esenciales (AE)	0.00	0.02	0.00	0.02
Premix*	4.00	4.00	4.00	4.00
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Composición nutrimental				
Proteína cruda, %	21.40	21.40	19.20	19.20
Energía metabolizable, kcal/kg	3.04	3.04	2.73	2.73

Cuadro 2. Composición de ingredientes y nutrientes de dietas experimentales (%) para la fase de finalizado (22-42 días de edad)

	Dieta estándar		Dieta reducida	
Ingredientes	0 ppm AE	200 ppm AE	0 ppm AE	200 ppm AE
Sorgo molido	61.40	61.38	71.00	70.98
Pasta de soya	30.10	30.10	24.00	24.00
Aceite vegetal (AV)	4.50	4.50	1.00	1.00
Aceites esenciales (AE)	0.00	0.02	0.00	0.02
Premix*	4.00	4.00	4.00	4.00
Total	100	100	100	100
Composición nutrimental				
Proteína cruda, %	18.70	18.70	16.80	16.80
Energía metabolizable, kcal/kg	3.12	3.12	2.89	2.89

*Premezcla: fosfato monocálcico, carbonato de calcio, sal común, promotor de crecimiento (BDM y 3-nitro), monensina sódica, aceite mineral, etoxiquina, retinol (acetato de vitamina A), colecalciferol-D3 (vitamina D3), acetato de α-tocoferilo. (vitamina E), vitamina K3, riboflavina (vitamina B2), cobalamina (vitamina B12), niacina (vitamina B3), D-pantotenato de calcio (vitamina B5), cloruro de colina (vitamina B4), hidroxitolueno butilado (BHT). Se calcula que la premezcla contiene: 19,80% Ca; 3,7% P total; 3,7% Na; 4,3% clorhidrato de L-lisina; y 5,2% DL-metionina. La premezcla para la fase de acabado de pollos de engorde es fabricada y distribuida por Trouw Nutrition, México, S.A. de C.V.

La temperatura ambiente y la humedad relativa se registraron durante todo el estudio utilizando cuatro higrómetros digitales (HTC-2, China). Los dispositivos se instalaron en cuatro corrales y se distribuyeron en cuatro ubicaciones diferentes. Se utilizó la fórmula descrita por Omomowo y Falayi (2021) [13] para determinar el índice de T-HR

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante un arreglo factorial de 2×2. Los principales efectos fueron dos dietas con diferentes concentraciones de nutrientes (estándar y reducida) y dos niveles de AE (0 y 200 ppm), así como la interacción entre estos efectos.

Para el desempeño productivo (aumento de peso, consumo de alimento e índice de conversión alimenticia), la réplica fue el promedio de pollos de engorda en cada corral. Se declaró significancia en $p<0,05$ y como tendencia $p \geq 0.05$ y $p \leq 0.10$. Para los análisis de datos se utilizó el software estadístico SAS [9].

Resultados

Desempeño productivo

Los resultados del rendimiento productivo de los pollos de engorda alimentados con dietas con diferentes concentraciones de nutrientes y aceites esenciales se muestran en el cuadro 3. En la fase inicial, el consumo de alimento

no se vio influenciado (P≥0,21) por los tratamientos dietéticos. El aumento de peso fue mayor (P<0,01) en las aves alimentadas con las dietas estándar que en aquellas que recibieron dietas con baja concentración de nutrientes. El aumento de peso promedio fue de 927 g y 807 g para los pollos de engorda alimentados con las dietas estándar y baja en nutrientes, respectivamente. El índice de conversión alimenticia tendió (P=0,09) a ser mejor en los pollos de engorda alimentados con dietas estándar en comparación con las aves alimentadas con dietas con baja concentración de nutrientes. La suplementación con aceites esenciales en las dietas no influyó (P≥0,14) en el consumo de alimento, el aumento de peso o el índice de conversión alimenticia de los pollos evaluados.

En la fase de finalización, se observó un mayor consumo de alimento (P=0,02) y aumento de peso (P=0,04) en las aves alimentadas con las dietas estándar que en aquellas que recibieron dietas con baja concentración de nutrientes. El consumo promedio de alimento fue de 3328 g y 2999 g y el aumento de peso promedio fue de 1743 g y 1562 g, respectivamente, para los pollos de engorda alimentados con las dietas estándar y baja en nutrientes. El índice de conversión alimenticia fue similar (P=0,97) entre los pollos de engorda que recibieron las dietas estándar y con bajos nutrientes. La suplementación con aceites esenciales en las dietas no influyó (P≥0,14) en el consumo de alimento, el aumento de peso o el índice de conversión alimenticia de los pollos de engorda.

En el período total (1 a 42 días), se observó un mayor consumo de alimento (P=0,02) y aumento de peso (P<0,01) en las aves alimentadas con las dietas estándar que en aquellas que recibieron las dietas con bajo contenido de concentración de nutrientes. El consumo promedio de alimento fue de 4665 g y 4264 g y el aumento de peso promedio fue de 2670 g y 2368 g, respectivamente, para los pollos de engorda alimentados con las dietas estándar y baja en nutrientes. La tasa de conversión alimenticia fue similar (P=0,51) entre los pollos de engorda que recibieron las dietas estándar y con bajos nutrientes.

La suplementación con aceites esenciales en las dietas no influyó en el consumo de alimento ni en el aumento de peso (P≥0,26), sin embargo, la tasa de conversión alimenticia tendió (P≥0,08) a mejorar con los aceites esenciales suplementados en las dietas de los pollos de engorda.

Cuadro 3. Rendimiento del crecimiento de pollos de engorde alimentados con dietas formuladas con diferentes concentraciones de nutrientes y aceites esenciales

	Dieta estándar		Dieta reducida		EEM	Valor de p (efecto principal)		
	0 ppm AE	200 ppm AE	0 ppm AE	200 ppm AE		Dieta	AE	Dieta × AE
Periodo de inicio (1-21 días)								
Consumo alimento, g	1351	1323	1283	1246	26.6	0.21	0.56	0.94
Ganancia de peso, g	928	926	770	843	21.7	<0.01	0.31	0.28
Conversión alimenticia	1.46	1.44	1.68	1.48	0.04	0.09	0.14	0.24
Periodo de finalizado (22-42 días)								
Consumo alimento, g	3443	3213	3039	2959	71.7	0.02	0.24	0.56
Ganancia de peso, g	1750	1736	1522	1601	44.5	0.04	0.71	0.59
Conversión alimenticia	1.99	1.87	2.00	1.85	0.04	0.97	0.14	0.88
Periodo completo (1-42 días)								
Consumo alimento, g	4793	4536	4322	4206	86.1	0.02	0.26	0.67
Ganancia de peso, g	2678	2662	2291	2444	62.8	<0.01	0.52	0.43
Conversión alimenticia	1.80	1.71	1.89	1.72	0.04	0.51	0.08	0.56

Condiciones climáticas

Los valores promedio de temperatura ambiente, humedad relativa y temperatura corporal de pollos de engorda a lo largo del estudio se muestran en la figura 1. Como se observa, los cambios en la temperatura ambiente tuvieron tendencias similares a los cambios en la temperatura corporal (r = 0,92), aunque la humedad relativa mostró un patrón diferente. Las temperaturas ambientales promedio (°C) fueron de 34,2±3,0, 33,1±3,4 y 33,6±3,2; humedad relativa (%) de 45,2±12,4,

49,3±16,5 y 47,2±14,7; índice de temperatura-humedad (THI) de 30,7 ± 1,8, 37,8 ± 3,1 y 34,1 ± 4,4; todos los casos respectivamente para inicio (1-21 días), finalización (21-42 días) y período total (1-42 días). Se registraron temperaturas ambientales más bajas en la fase de finalización que en la fase de inicio, aunque la fase de finalización tuvo un mayor THI, debido a la mayor humedad relativa. La Figura 2 muestra el índice T-HR a lo largo del estudio.

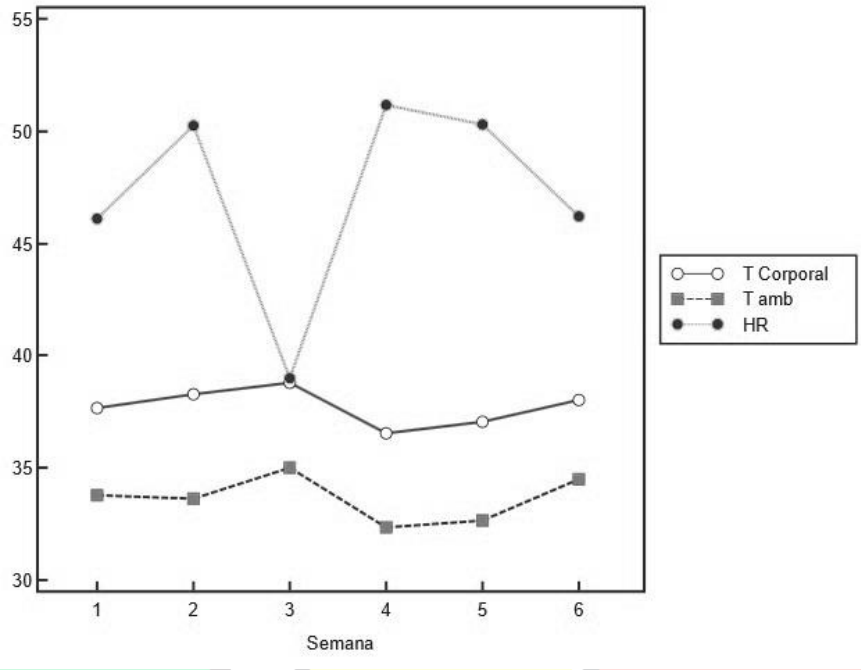


Figura 1. Valores medios de temperatura ambiente y corporal (°C) y humedad relativa (%) de pollos de engorda.

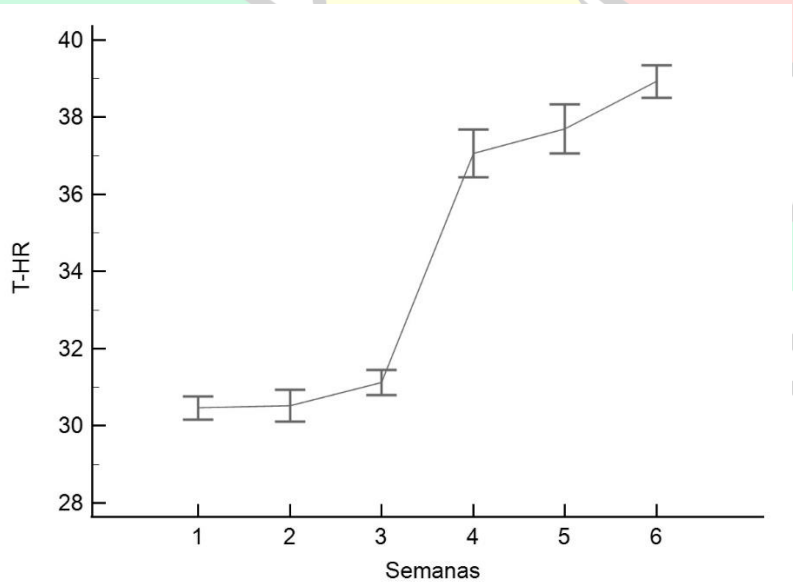


Figura 2. Índice de temperatura y humedad (THI) en todo el estudio.

Discusión

Efecto principal: concentración de nutrientes en las dietas.

En la fase inicial, las concentraciones de nutrientes en las dietas no se reflejaron en el consumo de alimento de los pollos de engorda. En parte, este efecto podría estar relacionado con la capacidad de adaptación de los pollos de engorda cuando

se les alimenta con dietas con bajas concentraciones de nutrientes; Los pollos de engorda intentan compensar la baja accesibilidad a los nutrientes de la dieta y los pollitos mejoran el proceso de digestión y absorción. La reducción de energía y proteínas en las dietas ha mejorado el desarrollo del tracto gastrointestinal; en el intestino delgado ha aumentado el tamaño de las vellosidades [10], [11]. Además de la concentración de nutrientes en las dietas, las altas temperaturas ambientales del presente estudio también podrían influir en el comportamiento productivo de los pollos de engorda. Las modificaciones fisiológicas y metabólicas de los pollos sometidos a estrés por calor se reflejan en la reducción del consumo de alimento como un intento de aliviar la producción de calor causada por la digestión y el metabolismo de los nutrientes [12], considerando que, en este estudio, las temperaturas medias y el índice de temperatura-humedad están por encima de los valores considerados en la zona de confort [13].

En la fase de finalización o prueba de alimentación total, el aumento de peso o el consumo de alimento fueron mayores en los pollos alimentados con dietas estándar que en los animales que recibieron dietas reducidas en nutrientes; sin embargo, la eficiencia de conversión alimenticia no fue diferente entre los animales alimentados con dietas estándar o reducidas en nutrientes. El mayor aumento de peso fue un efecto esperado en los pollos de engorda alimentados con la dieta estándar; sin embargo, la tasa de conversión alimenticia no mejoró en los pollos porque también tuvieron un mayor consumo de alimento.

Efecto principal: aceites esenciales en las dietas

En el estudio actual, los aceites esenciales (efecto principal) tendieron a mejorar la conversión alimenticia en el período de alimentación general (1 a 42 días). Este efecto podría esperarse, ya que a medida que los pollos aumentan el comportamiento productivo, las mejoras obtenidas con promotores de crecimiento son en menor cantidad [14]. Además de los AE, también se deben considerar las condiciones climáticas en el comportamiento productivo de los pollos de engorda. La mejora del comportamiento productivo de los pollos suplementados con aceite esencial de orégano (OEO) es evidente en diversos informes realizados en ambientes confortables o donde no se reporta estrés por calor. Las mejoras concuerdan con Zhang et al., (2021) [15] usando un OEO natural o sintético, y con Silva-Vázquez et al., (2018) [16] usando aceites de orégano de México. Ding et al., (2022) [17] también encontraron una mejora en el rendimiento productivo en pollos de engorda cuando recibieron OEO sintético (timol más carvacrol) en las dietas; Bosetti et al., (2020) [18] observaron que los aceites esenciales microencapsulados (carvacrol más cinamaldehído) eran similares a los antibióticos, pero mejores que el control (sin aditivos) para promover el comportamiento productivo de los pollos de engorda. Por el contrario, Botsoglou et al., (2002) [19] no observaron una mejora en el rendimiento productivo en pollos de engorda cuando se utilizó OEO. La influencia de los aceites esenciales de canela (cinamaldehído) sobre el comportamiento productivo de pollos de engorda ha sido menos concluyente. Yang et al., (2020) [20] descubrieron que el cinamaldehído y el citral encapsulados, por separado o en combinación, podrían mejorar el crecimiento de los pollos de engorda no vacunados y vacunados (contra la coccidiosis) a un nivel comparable al de los antibióticos, y alterar de manera similar la composición del microbiota. Por el contrario, Lee et al., (2003) [21] no encontraron cambios en el comportamiento productivo cuando utilizaron timol, cinamaldehído y un producto comercial de cinamaldehído en dietas para pollos de engorda. Yang et al., (2021) [14] con cinamaldehído encapsulado no reportaron efectos significativos en la producción; sugirieron que la falta de efecto puede estar relacionada con la producción óptima de los pollos de engorda en su estudio.

En el estudio actual, los aceites esenciales tendieron a mejorar la conversión alimenticia durante el período de alimentación general (1 a 42 días). El efecto de los aceites esenciales sobre la conversión alimenticia fue más evidente en las dietas reducidas que en las dietas estándar. En el período de alimentación general, los aceites esenciales mejoraron el índice de conversión alimenticia en las dietas estándar de 1,80 a 1,71 (5% de mejora), mientras que en las dietas reducidas cambió de 1,89 a 1,72 (9% de mejora). Los pollos de engorda en dietas estándar tuvieron menores mejoras en el índice de conversión alimenticia, en parte debido a los mayores niveles de producción, como se discutió anteriormente, cuando los animales se acercan a su nivel máximo de producción, los aditivos tienen menos oportunidades de mejorar la producción. En este contexto, Bravo et al., (2014) [22] en pollos de engorda suplementados con AE (carvacrol, cinamaldehído y oleorresina de pimiento) encontraron una mejora en la eficiencia alimenticia (9,8%) y la energía neta para la producción (12,5%); y el AE también redujo la pérdida total de calor, en comparación con los animales de la dieta de control. Ruff et al., (2021) [23] en pollos de engorda expuestos a estrés por calor cíclico informaron que la suplementación con AE (*Lippia origanoides*, *Rosmarinus officinalis*, con remolacha o betaína natural) mejoró el comportamiento productivo de los pollos de engorda y redujo la temperatura central corporal en comparación con los animales sin AE.

En el presente estudio, la mortalidad se observó en la fase de finalización (21-42 días) en las dietas estándar, y se distribuyó en 3 aves en el tratamiento de dieta estándar sin AE (3/50 = 6% del tratamiento), y 2 aves en el tratamiento de dieta estándar con 200 ppm de AE (2/50 = 4% del tratamiento). Las dietas reducidas en nutrientes con o sin AE no observaron muertes de aves. La mortalidad podría no estar relacionada con el AE, pero sí con el mayor peso corporal de los animales en las dietas estándar. Según Sosnówka-Czajka y Skomorucha (2022) [24] las muertes súbitas son más frecuentes en pollos de engorda de rápido crecimiento en fase de engorda, y la causa de esta condición son problemas cardíacos; para reducir la mortalidad sugieren reducir los nutrientes en las dietas y ajustarlas a temperaturas óptimas de confort en la producción intensiva de pollos de engorda. Se amerita realizar más investigaciones sobre el tema, considerando que en zonas tropicales y subtropicales en la temporada de verano se presentan condiciones de estrés calórico que podrían influir en la rentabilidad de los pollos de engorda.

Conclusiones

En estas condiciones de época cálida, el desempeño productivo o las características de la canal se vieron afectados con la reducción de las concentraciones de nutrientes en las dietas. La suplementación con AE tendió a mejorar la eficiencia de la conversión alimenticia y fue más evidente en dietas con bajas concentraciones de nutrientes. Además, en dietas con bajas concentraciones de nutrientes no se registró mortalidad en los pollos de engorda.

Referencias

[1] COMECARNE. Consejo Mexicano de la Carne, «Compendio estadístico,» 2022. [En línea]. Available: https://comecarne.org/wp-content/uploads/2022/05/compendio_estadistico_2022.pdf. [Último acceso: 12 Noviembre 2023].

[2] A. G. González, «El sitio porcino,» 13 Julio 2016. [En línea]. Available: https://www.elsitioporcino.com/articles/2735/situacian-de-la-porcicultura-mexicana-modernizacian/.

[3] S. Kvidera y E. Kvidera, «Efecto de la citrulina suplementaria sobre los parámetros térmicos y de producción durante el estrés por calor en cerdos en crecimiento,» Journal of Animal Science, p. 447, 2016.

[4] R. Martinez Martinez, M. E. Ortega Cerrilla, J. G. Herrera Haro, J. R. Kawas Garza, J. Zarate Ramos y R. Robles Soriano, «Uso de aceites esenciales en animales de granja,» Interciencia, vol. 40, nº 11, pp. 744-750, 2015.

[5] J. R. Gámez Piñón, A. L. Rentería Monterrubio, L. A. Durán Meléndez, A. Chávez Martínez, A. D. Alarcón Rojo, N. G. Aguilar Palma y R. Silva Vázquez, «Efecto del aceite esencial de orégano en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la carne de pollo,» Investigación y ciencia, vol. 23, nº 66, pp. 5-11, 2015.

[6] G. A. March Rosselló y J. M. Eiros Bouza, «quorum sensing en bacterias y levaduras,» Medicina Clínica, vol. 141, nº 8, pp. 353-357, 2013.

[7] G. Su, W. Lan, Z. Xuanwu, W. Xiying, C. Daiwen, Y. Bing, H. Zhiqing, L. Yuheng, M. Xiangbing, Z. Ping, Y. Jie, L. Junqiu y H. Jun, «Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity and intestinal health in broilers» Poultry Science, vol. 100, nº 6, pp. 1-10, 2021.

[8] NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry (9th rev. ed.), National Academy Press, Washington, DC, 1994.

[9] SAS Institute Inc., SAS 9.1.3 Help and Documentation, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002-2004.

[10] V. Laudadio, A. Dambrosio, G. Normanno, R.U. Khan, S. Naz, E. Rowghani, V. Tufarelli, «Effect of reducing dietary protein level on performance responses and some microbiological aspects of broiler chickens under summer environmental conditions». Avian Biology Research, vol. 5, nº 2, pp. 88-92, 2012.

[11] J. J Mallo, C. Sol, M. Puyalto, C. Bortoluzzi, T. J. Applegate, M. J. Villamide, «Evaluation of sodium butyrate and nutrient concentration for broiler chickens». Poultry Science, vol. 100, nº 12, pp. 1-11, 2021.

[12] J. R. Teyssier, G. Brugaletta, F. Sirri, S. Dridi, S. J. Rochell, «A review of heat stress in chickens. Part II: Insights into protein and energy utilization and feeding». Frontiers in Physiology, pp. 1-17, 2022.

[13] O. O. Omomowo, F. R. Falayi. 2021. «Temperature-humidity index and thermal comfort of broilers in humid tropics». AgricEngInt: CIGR Journal, vol. 23, nº 3, pp. 101-110, 2021.

[14]. C. Yang, M. S. Diarra, J. Choi, A. Rodas-Gonzalez, D. Lepp, S. Liu, ... C. Yang, «Effects of encapsulated cinnamaldehyde on growth performance, intestinal digestive and absorptive functions, meat quality and gut microbiota in broiler chickens». Translational Animal Science, vol. 5, nº 3, 2021.

[15]. L. Y. Zhang, Q. Y. Peng, Y. R. Liu, Q. G. Ma, J. Y. Zhang, Y. P. Guo, ... L. H. Zhao, «Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status, and intestinal health of broilers». Poultry Science, vol. 100, nº 7, 2021.

[16] R. Silva-Vázquez, L. A. Duran-Meléndez, C. A. Hernández-Martínez, J. G. Gutiérrez-Soto, M E. Hume, G. Méndez-Zamora, «Effects of two sources of Mexican oregano oil on performance, blood profile, carcass variables, and meat of broilers». Revista Brasileira de Zootecnia, vol. 47, pp. 1-10, 2018.

[17] Y. Ding, Y. Hu, X. Yao, Y. He, J. Chen, J. Wu, ... Z. Song, «Dietary essential oils improve the growth performance, antioxidant properties and intestinal permeability by inhibiting bacterial proliferation, and altering the gut microbiota of yellow-feather broilers». Poultry Science, vol. 101, nº 11, 2022.

[18] G. E. Bosetti, L. Griebler, E. Aniecevski, C. S. Facchi, C. Baggio, G. Rossatto, ... T. G. Petrolli, «Microencapsulated carvacrol and cinnamaldehyde replace growth-promoting antibiotics: Effect on performance and meat quality in broiler chickens». Anais da Academia Brasileira de Ciências, vol. 92, 2020.

[19] N.A. Botsoglou, P. Florou-Paneri, E. Christaki, D. J. Fletouris, A. B. Spais, «Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues». British Poultry Science, vol. 43, nº 2, pp. 223-230, 2002.

[20] C. Yang, Y. M. Kennes, D. Lepp, X. Yin, Q. Wang, H. Yu, ... M. S. Diarra, «Effects of encapsulated cinnamaldehyde and citral on the performance and cecal microbiota of broilers vaccinated or not vaccinated against coccidiosis». Poultry Science, vol. 99, nº 2, pp. 936-948, 2020.

[21] K. W. Lee, H. Everts, H. J. Kappert, M. Frehner, R. Losa, A. C. Beynen, «Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens». British Poultry Science, vol. 44, nº 3, pp. 450-457, 2003.

[22] D. Bravo, V. Pirgozliev, S. P. Rose, «A mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin improves energy utilization and growth performance of broiler chickens fed maize-based diet». Journal of Animal Science, vol. 92, nº 4, pp. 1531-1536, 2014.

[23] J. Ruff, G. Tellez Jr, A. J. Forga, R. Señas-Cuesta, C. N. Vuong, E. S. Greene, ... G. Tellez-Isaias, «Evaluation of three formulations of essential oils in broiler chickens under cyclic heat stress». Animals, vol. 11, nº 4, 2021.

[24] E. Sosnówka-Czajka, I. Skomorucha, «Sudden death syndrome in broiler chickens: a review on the etiology and prevention of the syndrome». Annals of Animal Science, vol. 22, nº 3, pp. 865-871, 2022.

AVEM
Aviespecialistas de México

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE BUTIRATO DE SODIO EN DIETAS PARA POLLO DE ENGORDA DE 1 A 49 DÍAS DE EDAD SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, PIGMENTACIÓN CUTÁNEA, RENDIMIENTO DE CANAL Y LONGITUD DE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES

Ángel Manuel Ornelas Roa1, Melanie Margarito Romero1,2
[1] Archer Daniels Midland Company
[2]Centro de enseñanza, investigación y extensión en producción avícola
melanie.margarito.332@gmail.com

Resumen
El presente estudio se realizó con la finalidad de evaluar el efecto de la inclusión de butirato sódico en dietas para pollo de engorda y evaluar su efecto sobre parámetros productivos, pigmentación de la piel y morfometría intestinal. Se utilizaron un total de 600 pollos de 1 día de edad de la estirpe Ross 308. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 5x2, donde un factor fue el tratamiento y otro el sexo. Los 5 tratamientos contaron con 3 repeticiones de hembras y 3 repeticiones de machos, siendo un total de 6 repeticiones por tratamiento de 20 pollos cada una. Los tratamientos fueron los siguientes: A: Dieta testigo + (BMD Colistina) (500 g/t), B: Dieta testigo + aditivo 1 (1 kg/t), C: Dieta testigo + aditivo 2 (700 g/t), D: Dieta testigo + aditivo 3 (300 g/t), E: Dieta testigo + aditivo 4 (1 kg/t). Los resultados obtenidos indicaron diferencia ($p<0.05$) para el factor sexo en todas las variables productivas obteniendo mejores resultados productivos en los machos. Los resultados de pigmentación amarilla de la piel arrojaron diferencia estadística entre tratamientos en canal fría con el valor más alto en el tratamiento E. Respecto a los resultados de morfometría intestinal indicaron diferencia entre tratamientos resultando los tratamientos A, B Y C con valores en la altura de las vellosidades y profundidad de la cripta mayores respecto a los tratamientos D y E. De los resultados obtenidos se puede concluir que los aditivos utilizados, arrojaron resultados similares al tratamiento testigo resultando en una alternativa.

Palabras Clave: ácido butirico, alternativa, aditivos, ácidos orgánicos, salud intestinal.

Introducción

Por mucho tiempo los antibióticos han sido utilizados como aditivos en la alimentación animal por sus características bacteriostáticas o bactericidas y a la promoción del crecimiento animal. Sin embargo, la resistencia bacteriana a los antibióticos y los residuos han generado su restricción y prohibición en la alimentación animal. Lo que significa que la alimentación sin antibióticos se ha convertido en una tendencia inevitable en todo el mundo [1].
Debido a que los altos niveles de producción y una conversión alimenticia eficiente son la necesidad de la industria avícola moderna, se ha vuelto necesaria la búsqueda de alternativas a los antibióticos, lo que podría lograrse mediante el uso de aditivos específicos para alimentos [2].
Se ha descubierto que los tratamientos con ácidos orgánicos compuestos de ácidos individuales y mezclas de varios ácidos tienen actividades antimicrobianas similares a las de los antibióticos [3].
Existe una amplia gama de ácidos orgánicos con propiedades físicas y químicas variables, de los cuales muchos se usan como suplementos de agua potable o como aditivos para piensos (acidificantes). Muchos también están disponibles como sales de sodio, potasio o calcio (y/o parcialmente esterificados). La ventaja de las sales sobre los ácidos es que generalmente son inodoras y más fáciles de manejar en el proceso de fabricación de alimentos debido a su forma sólida y menos volátil [2].
Se ha informado que el uso de ácidos orgánicos protege a los pollitos jóvenes por exclusión competitiva [3], mejora de la utilización de nutrientes y eficiencia de crecimiento y conversión alimenticia [4]. Una buena salud intestinal en la industria avícola es de gran importancia para lograr las tasas de crecimiento objetivo y la eficiencia alimenticia. Se ha demostrado que los ácidos grasos de cadena corta estimulan la proliferación de las células de las criptas normales, mejorando la renovación y el mantenimiento de tejidos saludables [1]. Existen reportes también, que el butirato, independientemente de las concentraciones (0,2 %, 0,4 % o 0,6 %) en la dieta de los pollos de engorde, mejoró la longitud de las vellosidades y la profundidad de las criptas en el duodeno. Por lo tanto, la suplementación con butirato podría ser muy útil para el desarrollo intestinal de las aves jóvenes [6,7,8].

Con base en esta información se planteó la siguiente investigación.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv), perteneciente a la Facultad de Medina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Ubicado en la calle Manuel M. López s/n Colonia Zapotitlán, Alcaldía Tláhuac, Ciudad de México.

Se utilizaron 600 pollos de 1 día de edad de la estirpe Ross 308, los cuales fueron distribuidos al azar en 5 tratamientos con 6 repeticiones, 3 repeticiones de hembras y 3 repeticiones de machos de 20 pollos cada una.

La dieta fue formulada por la empresa ADM® con base en los requerimientos de la estirpe Ross 308. Se emplearán 4 fases de alimentación:

- Pre inicio (0 a 10 días)
- Iniciador (11 a 21 días)
- Crecimiento (22 a 35 días)
- Finalizador (36 a 49 días).

Los tratamientos fueron los siguientes:

- Tratamiento A: Dieta Testigo + (BMD Colistina) (500 g/t)
- Tratamiento B: Dieta testigo + aditivo 1 (1 kg/t)
- Tratamiento C: Dieta testigo + aditivo 2 (700 g/t)
- Tratamiento D: Dieta testigo + aditivo 3 (300 g/t)
- Tratamiento E: Dieta testigo + aditivo 4 (1 kg/t)

El agua y alimento se proporcionaron ad libitum durante todo el experimento.

Las aves fueron alojadas en una caseta de ambiente natural con aislante térmico en el techo, habilitada con túneles internos y cortinas externas. La duración del experimento fue de 7 semanas.

Se llevaron registros semanales, durante todo el ciclo de producción, de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad.

Al día 10 de edad los pollos fueron vacunados contra la enfermedad de Newcastle (ENC), vía ocular y contra influenza aviar y ENC vía subcutánea.

A los días 35, 42 y 49 de edad se evaluó la pigmentación amarilla de la piel del pollo con un colorímetro de reflectancia (Minolta modelo CR 400), en la zona aptérica lateral derecha.

Al día 49 de edad fueron seleccionadas al azar 20 aves por tratamiento, 10 hembras y 10 machos, para ser procesadas y determinar peso vivo, rendimiento de canal fría y pigmentación amarilla de la piel en canal fría.

También se seleccionaron 10 aves por tratamiento, 5 hembras y 5 machos, para determinar longitud de las vellosidades intestinales en duodeno.

Se utilizo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5 x 2, en donde un factor fue el tratamiento y el otro el sexo del ave. Los resultados de las variables productivas fueron sometidos a un análisis de varianza, en caso de existir diferencia significativa ($p<0.05$), los datos se sometieron a un análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey.

Resultados

Para las variables de parámetros productivos, representadas en el cuadro 1, no existió diferencia (p¬>0.05) para el factor tratamiento, sin embargo, en el factor sexo si se observó diferencia ($p<0.05$) pues la ganancia de peso y consumo de alimento fue mayor en los machos, mientras que la conversión alimenticia fue mayor en las hembras.

	Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento (g)	Conversión alimenticia (kg/kg)	Mortalidad (%)
Factor Tratamiento				
A	3126.9 a	6079.4 a	1.94 a	4.16 a
B	3072.1 a	6161.6 a	2.01 a	5.83 a
C	3253.5 a	6208.3 a	1.92 a	5.00 a
D	3263.2 a	6542.3 a	2.01 a	5.83 a
E	3204.8 a	6725.7 a	2.09 a	2.50 a
EEM	73.747	204.789	0.061	2.357
Factor sexo				
Macho	3399.6 b	6652.76 b	1.96 a	6.00 a
Hembra	2968.7 a	6034.31 a	2.04 b	3.33 a
EEM	46.641	129.520	0.039	1.491
Fuente de variación				
Tratamiento	0.320	0.163	0.317	0.841
Sexo	0.000	0.003	0.194	0.22
Trat. x sexo	0.362	0.064	0.041	0.921

Valores con literales diferentes indican diferencia p<0.05
A=Tratamiento testigo; B=dieta testigo + aditivo 1; C: dieta testigo + aditivo 2; D: dieta testigo + aditivo 3; E: dieta testigo + aditivo 4.
Cuadro 1. Resultados promedio de los parámetros productivos en pollos de engorda de 49 días alimentados con dietas con ácido butírico.

En las variables evaluadas durante el procesamiento de las aves, en el cuadro 2, no se observó diferencia entre tratamientos (p>0.05), no así en el factor sexo pues el peso vivo y el peso de la canal fría en las hembras fue menor al reportado en los machos, mientras que el porcentaje de rendimiento de la canal fue mayor en las hembras.

	Peso vivo (g)	Peso de canal fría (g)	Rendimiento de canal (%)
Factor Tratamiento			
A	3236.4 a	2578.7 a	79.8 a
B	3256.4 a	2502.7 a	76.9 a
C	3299.8 a	2569.6 a	78.0 a
D	3374.7 a	2643.1 a	78.7 a
E	3430.5 a	2699.3 a	78.7 a
EEM	65.568	56.198	0.978
Factor sexo			
Macho	3607.3 b	2780.1 b	77.0 a
Hembra	3031.8 a	2417.2 a	79.8 b
EEM	41.469	35.543	0.619
Fuente de variación			
Tratamiento	0.226	0.171	0.349
Sexo	0.000	0.00	0.006
Trat. x sexo	0.035	0.016	0.069

Valores con literales diferentes indican diferencia p<0.05
A=Tratamiento testigo; B=dieta testigo + aditivo 1; C: dieta testigo + aditivo 2; D: dieta testigo + aditivo 3; E: dieta testigo + aditivo 4.
Cuadro 2. Resultados promedio de peso vivo, peso de la canal fría y porcentaje de rendimiento de canal en pollos de engorda de 49 días alimentados con dietas con ácido butírico.

En cuanto a la pigmentación amarilla de la piel, datos representados en el cuadro 3, no se observó diferencia (p>0.05) entre sexo y tratamientos los días 35, 42 y 49, en el caso de canal fría se observó diferencia entre tratamientos con el valor

más alto en el tratamiento 5 y el menor en el tratamiento 3, en el caso del factor sexo también se observó diferencia obteniendo el valor más alto en las canales de hembras.

Pigmentación amarilla de la piel (b*)

Factor Tratamiento	Día 35	Día 42	Día 49	Canal Fría
A	14.4 a	15.7 a	17.6 a	36.7 ab
B	14.8 a	16.3 a	17.5 a	34.9 ab
C	14.6 a	15.9 a	17.0 a	33.6 a
D	14.6 a	15.8 a	17.5 a	35.6 ab
E	14.7 a	16.0 a	17.9 a	37.7 b
EEM	0.378	0.276	0.325	0.744
Factor sexo				
Macho	14.7 a	15.8 a	17.2 a	34.9 a
Hembra	14.5 a	16.0 a	17.7 a	36.4 b
EEM	0.239	0.175	0.206	0.470
Fuente de variación				
Tratamiento	0.962	0.639	0.407	0.009
Sexo	0.623	0.51	0.085	0.039
Trat. x sexo	0.438	0.849	0.440	0.708

Valores con literales diferentes indican diferencia p<0.05
A=Tratamiento testigo; B=dieta testigo + aditivo 1; C: dieta testigo + aditivo 2; D: dieta testigo + aditivo 3; E: dieta testigo + aditivo 4.

Cuadro 3. Resultados promedio de la pigmentación amarilla de la piel en pollos de engorda alimentados con dietas con ácido butírico.

Respecto a la medición de altura de las vellosidades y profundidad de las criptas intestinales, representadas en el cuadro 4, se encontró diferencia indicando que los tratamientos A, B y C tienen altura de la vellosidad y profundidad de la cripta mayores respecto a los tratamientos D y E, en el caso del factor sexo también se encontró diferencia, con valores más altos en los machos.

Medición de altura de vellosidades intestinales y profundidad de criptas

Factor Tratamiento	Altura de la vellosidad	Profundidad de la cripta
A	2006.1 b	366.4 b
B	1987.4 b	368.3 b
C	2019.6 b	368.4 b
D	1847.4 a	341 a
E	1862.9 a	317.2 a
EEM	9.375	2.942
Factor sexo		
Macho	2014 b	359.1 b
Hembra	1873 a	345 a
EEM	12	3.9
Fuente de variación		
Tratamiento	0.01	0.001
Sexo	0.01	0.01
Trat. x sexo	0.01	0.001

Valores con literales diferentes indican diferencia p<0.05
A=Tratamiento testigo; B=dieta testigo + aditivo 1; C: dieta testigo + aditivo 2; D: dieta testigo + aditivo 3; E: dieta testigo + aditivo 4.

Cuadro 4. Resultados de la medición de la altura de las vellosidades y profundidad de la cripta en pollos de engorda de 49 días alimentados con dietas con ácido butírico.

Discusión

Los resultados en el presente estudio arrojaron similitud en el tratamiento testigo y los tratamientos con butirato sódico. Lo encontrado indicó que, en ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia no se encontró diferencia entre el tratamiento testigo y a los que se les agrego butirato sódico. Makled *et al.* [9] reportan que el uso de butirato de sodio en pollos no afecta el rendimiento productivo, pero sí tuvo un efecto beneficioso en la microbiota intestinal al incrementar el recuento de lactobacilos ileales, contrario a lo que reporta Deng *et al.* [1] pues los pollos de los tratamientos suplementados con ácido butírico obtuvieron mejor peso, ganancia de peso y conversión alimenticia comparados con aquellos tratamientos que no fueron suplementados, esto es porque puede favorecer el funcionamiento fisiológico y la salud del intestino así como mejorar el equilibrio del microbioma intestinal. En consecuencia, el ácido butírico es conocido por sus efectos protectores y antibacterianos a través de un mayor rendimiento del crecimiento, una integridad intestinal elevada, resistencia al estrés inmunológico, prevención de la infección por *Eimeria maxima* y *Salmonella enteritidis* y protección contra la enteritis necrótica cuando se usa como aditivo alimentario [10].

La suplementación con ácido butírico y sus sales se encuentran entre las estrategias para modular la microbiota intestinal y mantener la salud intestinal de las aves. Pueden promover la proliferación de células epiteliales intestinales y aumentar la altura de las vellosidades, mejorando así la superficie de absorción del TGI [11]. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio la altura de las vellosidades en el tratamiento testigo y los que contenían butirato sódico son muy similares, sin embargo, dos de los tratamientos suplementados presentan alturas menores al tratamiento testigo. Wu *et al.* [12] reportan que los pollos de engorde suplementados con butirato de sodio recubierto a 0, 200, 400, 800 o 1000 mg/kg mostraron una mejor integridad intestinal al estimular las células caliciformes en el yeyuno y aumentar la altura de las vellosidades ileales a los 42 días de edad, por otro lado Elnesr *et al.* mencionaron que la inclusión de butirato de sodio a 0,5 y 1 g/kg aumentó la longitud de las vellosidades en el día 21 (55 y 27%) y el día 42 (39 y 18%), respectivamente, en comparación con la dieta basal.

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales descritas, se puede concluir que el uso de butirato sódico en dietas para pollo de engorda en las dosis especificadas, no tuvieron efecto entre tratamientos en parámetros productivos, respecto al tratamiento testigo, en el caso de la pigmentación amarilla de la piel los resultados fueron similares en el tratamiento testigo y los adicionados con butirato sódico, al igual que en la altura de las vellosidades intestinales y profundidad de la cripta. Esto resulta controversial respecto a lo reportado en otras investigaciones, sin embargo, es importante considerar que las diferencias encontradas por los autores y en la presente investigación pueden atribuirse a muchas variables que afecten la respuesta de las aves a la inclusión de butirato sódico en la dieta como el tipo de producto, nivel de inclusión, almacenamiento del producto, forma de aplicación, liberación objetivo de los productos en el tracto gastrointestinal, la edad, el sexo y la estirpe de las aves.

Referencias

[1] Deng F, Tang S, Zhao H, Zhong R, Liu L, Meng Q, et al. Combined effects of sodium butyrate and xylo-oligosaccharide on growth performance, anti-inflammatory and antioxidant capacity, intestinal morphology and microbiota of broilers at early stage. Poult Sci. 2023; 102(5):102585

[2] Hassan KS, Iqbal J. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. Jornal of Applied Animal Research. 2015;44(1): 359-369.

[3] Wang JP, Yoo JS, Lee JH, Zhou TX, Jang HD, Kim HJ, Kim IH. Effects of phenyllactic acid on production performance, egg quality parameters, and blood characteristics in laying hens. J Appl Poultry Res. 2009; 18:203–209.

[4] Mansoub NH, Karim R, Leila M, Mohammad AMN, Seyede LZ, Mehdi MK. Effect of different level of butyric acid glycerides on performance and serum composition of broiler chickens. World J Zool. 2011;6(2):179–182
Lückstädt C, Mellor S. The use of organic acids in animal nutrition, with special focus on dietary potassium diformate under European and Austral-Asian conditions. Recent Adv Animal Nutr Aus. 2011; 18:123–130.

[5] Frankel WL, Zhang W, Singh A, Klurfeld DM, Don S, Sakata T, Rombeau JL. Mediation of the trophic effects of short chain fatty acids on the rat jejunum and colon. Gastroenterology.1994; 106:385–390.

[6] Leeson S, Namkung H, Antongiovanni M, Lee EH. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. Poultry Science.2005; 84:1418–1422.

[7] Panda AK, Rama Rao SV, Raju MVLN, Shyam GS. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. Asian-Aust J Anim Sci. 2009; 22(7):1026–1031.

[8] Makled MN, Abouelezz KFM, Gad-Elkareem AEG, Sayed AM. Comparative influence of dietary probiotic, yoghurt, and sodium butyrate on growth performance, intestinal microbiota, blood hematology, and immune response of meat-type chickens. Trop Anim Health Prod. 2019; 51(8):2333–2342.

[9] Zou X, Ji J, Qu H, Wang J, Shu DM, Wang Y, et al. Effects of sodium butyrate on intestinal health and gut microbiota composition during intestinal inflammation progression in broilers. Poult Sci. 2019; 98(10):4449–4456.
Melaku M, Zhong R, Han H, Wan F, Yi B, Zhang H. Butyric and citric acids and their salts in poultry nutrition: effects on gut health and intestinal microbiota. Int J Mol Sci. 2021; 22(19):10392.
[10] Wu, W.; Xiao, Z.; An, W.; Dong, Y.; Zhang, B. Dietary Sodium Butyrate Improves Intestinal Development and Function by Modulating the Microbial Community in Broilers. PLoS ONE. 2018; 13(5): e0197762
Elnesr, S.S.; Alagawany, M.; Elwan, H.A.M.; Fathi, M.A.; Farag, M.R. Effect of Sodium Butyrate on Intestinal Health of Poultry—A Review. Ann.
[11] Anim. Sci. 2020;20: 29–41.

[12]

[13]

AVEM
Aviespecialistas de México

DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA LACTOFERRINA BOVINA EN *Fusarium verticillioides*

Ricardo Ramírez-Mondragón[1], Juan Omar Hernández-Ramírez[1], Gerardo A.Ramírez-Rico[1, 2] y Guadalupe Mireya De la Garza-Amaya[2]
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México.
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
ricardo.ramirez.mondragon@cuautitlan.unam.mx

Resumen:

Uno de los principales hongos micotoxigénicos que infecta al maíz, así como otros granos y semillas es *Fusarium verticillioides*, en el campo se ha hecho uso de diversos compuestos fungicidas como medida de prevención o control y a pesar de estas medidas, el problema de la contaminación con micotoxinas en granos y semillas persiste. El uso de Lactoferrina bovina (Lfb) podría ser una nueva alternativa; es una proteína que se ha demostrado que puede inhibir el crecimiento de diversos agentes microbianos, incluyendo hongos. Se evaluó el efecto de Lfb, sales de bicarbonato de amonio (BA), ácido acético glacial (AAG) y la combinación de estos 2 últimos con Lfb sobre la producción de esporas y la viabilidad de *F. verticillioides* cultivado en grano de maíz (GM) y en caldo papa dextrosa (CPD). Para todos los tratamientos, se realizaron conteos análogos y mediciones de pH cada 24 horas, los datos se analizaron mediante el modelo de ANDEVA de 1 sola vía con un $\alpha<0.05$ y una comparación de medias de Tukey. BA no presentó efectos inhibitorios en la producción y la viabilidad de las esporas en ambos medios de cultivo, el resto de los tratamientos mostraron efectos inhibitorios en la producción de esporas y la viabilidad de *F. verticillioides.* La Lfb, el AAG, así como las combinaciones de Lfb resultaron tener un efecto fungicida del 100 % sobre *F. verticillioides* a las 48 - 72 horas de su aplicación tanto en medio CPD, así como en GM, lograron disminuir la producción de esporas y las esporas restantes resultaron ser inviables. La Lfb podría ser sugerida de manera solitaria o en combinación con algún otro fungicida, como una alternativa de tratamiento o prevención a las infecciones que produce *F. verticillioides* en los diversos granos y semillas.
Palabras Clave: granos, semillas, hongos, esporas, proteína, fungicida.

Abstract:

One of the main mycotoxigenic fungi that infects corn, as well as other grains and seeds, is *Fusarium verticillioides*. In the field, various fungicide compounds have been used as a prevention or control measure and despite these measures, the problem of contamination with mycotoxins in grains and seeds persist. The use of bovine lactoferrin (Lfb) could be a new alternative; It is a protein that has been shown to inhibit the growth of various microbial agents, including fungi. The effect of Lfb, ammonium bicarbonate salts (BA), glacial acetic acid (GAA) and the combination of the latter 2 with Lfb on the spore production and viability of *F. verticillioides* grown on corn grain (GM) was evaluated and in potato dextrose broth (CPD). For all treatments, analogous counts and pH measurements were carried out every 24 hours. The data were analyzed using the 1-way ANDEVA model with $\alpha<0.05$ and a Tukey comparison of means. BA did not present inhibitory effects on spore production and viability in both culture media, the rest of the treatments showed inhibitory effects on spore production and viability of *F. verticillioides*. The Lfb, the AAG, as well as the combinations of Lfb turned out to have a 100% fungicidal effect on *F. verticillioides* at 48 - 72 hours after its application in both CPD medium, as well as in GM, they managed to reduce the production of spores and the remaining spores turned out to be nonviable. Lfb could be suggested alone or in combination with some other fungicide, as an alternative for treatment or prevention of infections caused by *F. verticillioides* in various grains and seeds.
Key Words: grains, seeds, fungi, spores, protein, fungicide.

Introducción

Los granos constituyen una fuente de energía básica para la alimentación humana y animal, durante su formación y desarrollo en el campo, transporte y almacenamiento, los granos y semillas pueden ser invadidos por diversos hongos fitopatógenos, que, además, algunos de ellos pueden ser transmitidos de un ciclo agrícola a otro a través de las semillas (Reyes-Pérez & Sánchez-Hernández, 2019).

La especie *F. verticillioides* es el principal patógeno del cultivo de maíz, produce enzimas líticas y micotoxinas que contribuyen a la infección, estas provocan perdidas en la producción agrícola y daños en la salud animal y humana. La prevención de la producción de micotoxinas implica el control del hongo en el campo, existen diversas estrategias de

control y prevención las cuales implican el uso de fungicidas, como ácido acético (AA) y bicarbonato de amonio (BA), BA inhibe la germinación esclerótica y el crecimiento micelial de diversos hongos micotoxigénicos y AA disminuye el valor del pH lo cual puede influir en el crecimiento microbiano (Gimeno & Martins, 2011).
A pesar de existir diversas alternativas de prevención y control para el problema de hongos y micotoxinas, aún no podemos eliminar este peligro por completo, motivo por el cual es necesario buscar nuevas alternativas que puedan contribuir a disminuir este problema. El uso de lactoferrina (Lf) podría ser una alternativa, esta proteína tiene propiedades antimicrobianas contra hongos. Es una glicoproteína de unión a hierro, secuestra iones libres de Fe^{3+}, está se encuentra en las secreciones de los mamíferos como la leche materna. Se han realizado estudios donde se ha demostrado que la Lf de múltiples especies puede inhibir el crecimiento de algunos agentes patógenos, incluyendo a los hongos. El principal mecanismo antifúngico de Lf ocurre a través de una interacción directa con la superficie de la célula fúngica, además, se han observado daños en la mitocondria por un mecanismo dependiente de caspasas caracterizándose por acumulación de radicales superóxido y liberación del citocromo C como sucede en la levadura de Saccharomyces cerevisiae [3] [4]. En el siguiente estudio el efecto que produce la lactoferrina bovina (Lfb) en el hongo *Fusarium verticillioides* en cultivo líquido caldo papa dextrosa (CPD) y sólido en grano de maíz estéril (GM). Se elaboró una curva de producción de esporas de *F. verticillioides* en CPD y en GM, se observó el efecto de las sales de bicarbonato de amonio (BA) y ácido acético glacial (AAG) en la producción de esporas de *F. verticillioides* en CPD y en GM y también se estableció el efecto de Lfb en combinación con BA y AAG durante la producción de esporas de *F. verticillioides* en CPD y en GM.

Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron en condiciones *In vitro*, en las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, en el laboratorio del Programa de Investigación Aviar (PIA) de micotoxicología.
La cepa con la cual se prepararon los inóculos de *F. verticillioides* (UNIGRAS-2509), fue proporcionada amablemente por el Dr. Ernesto Moreno Martínez † de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
Tanto Lfb (Nutrisciences®, USA) como AAG (SIGMA®, USA) fueron proporcionados amablemente por el Laboratorio 52 de Biología celular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. La Lfb se reconstituyó con agua destilada y posteriormente se realizó una esterilización por filtración en membranas de nitrocelulosa de 0.22 µm (Millipore, USA). Las sales de BA (Econoclear®, México) y AAG se prepararon con agua destilada a una concentración del 10 %.

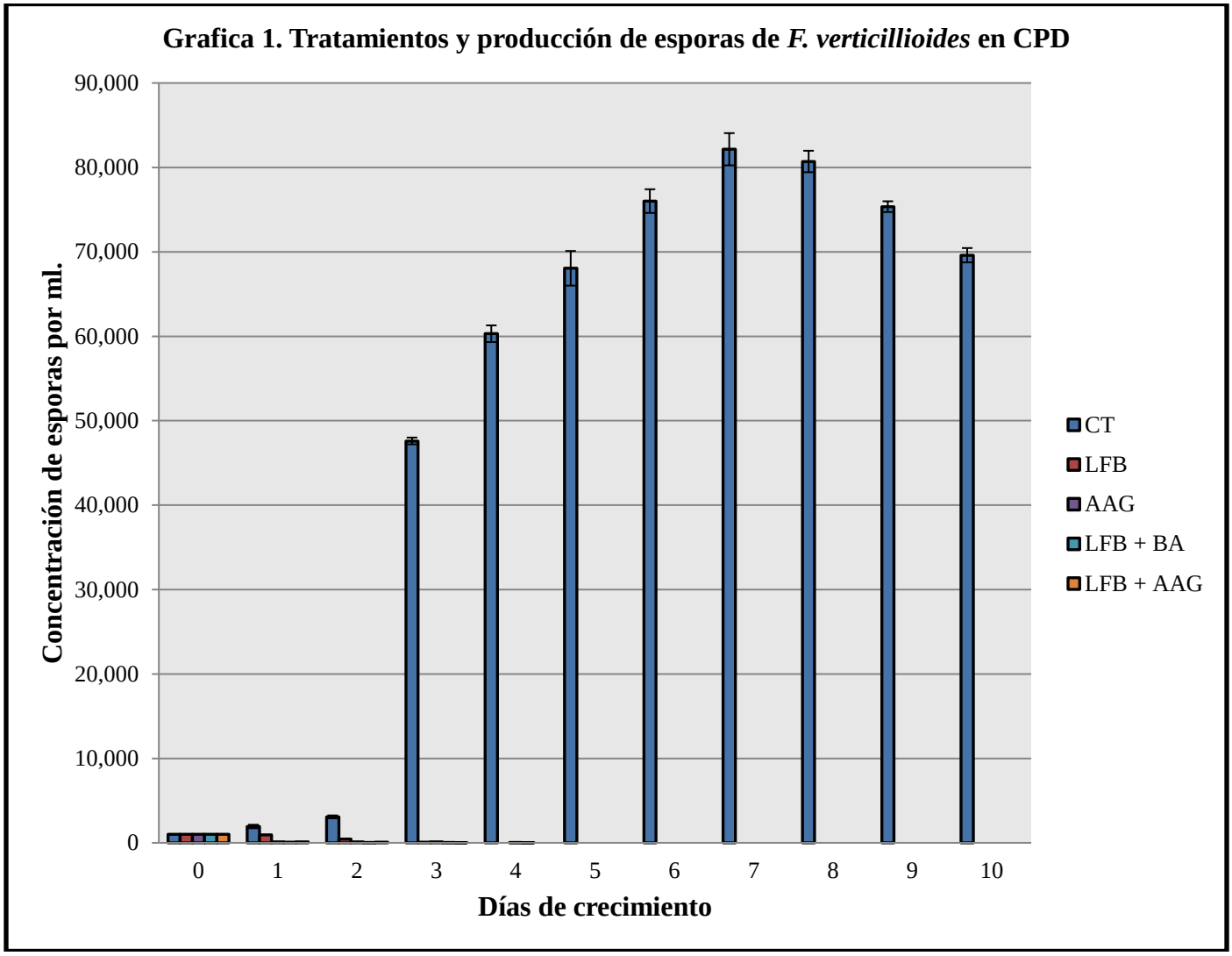
El experimento se realizó en 2 fases, en una se utilizó CPD como medio de cultivo y en la otra viales con granos de maíz amarillo *Zea mays* (GM).
Cada fase contó con 6 tratamientos, control (CT), lactoferrina bovina (Lfb) a una concentración de 3 µM (GM) y 1.8 µM (CPD) , bicarbonato de amonio (BA) (54 µM CPD, 90 µM GM), ácido acético glacial (AAG) (54 µM CPD, 90 µM GM), Lfb + BA (Lfb 1.4 µM + BA 10 µM CPD y Lfb 2 µM + BA 30 µM GM) y Lfb + AAG (Lfb 1.4 µM + AAG 10 µM CPD y Lfb 2 µM + AAG 30 µM GM).

A cada tratamiento se le inocularon 1000 esporas de *F. verticillioides*, se mantuvieron durante 10 días de crecimiento en un horno bacteriológico, a una temperatura de 30 – 36 °C y una humedad relativa del 35 – 40 %. Cada 24 horas (hrs) se realizaron conteos análogos de esporas y mediciones de pH apoyándonos con la cámara de Neubauer y un potenciómetro. Los días 4 y 8 de crecimiento se realizaron pruebas de viabilidad, estás consistieron en realizar alícuotas de los tratamientos y luego inocular una muestra de la alícuota en placas de agar papa dextrosa. Los datos fueron analizados con un modelo de varianza ANDEVA, con un análisis completamente al azar por comparación de medias de Tukey con un alfa de <0.05.

Resultados

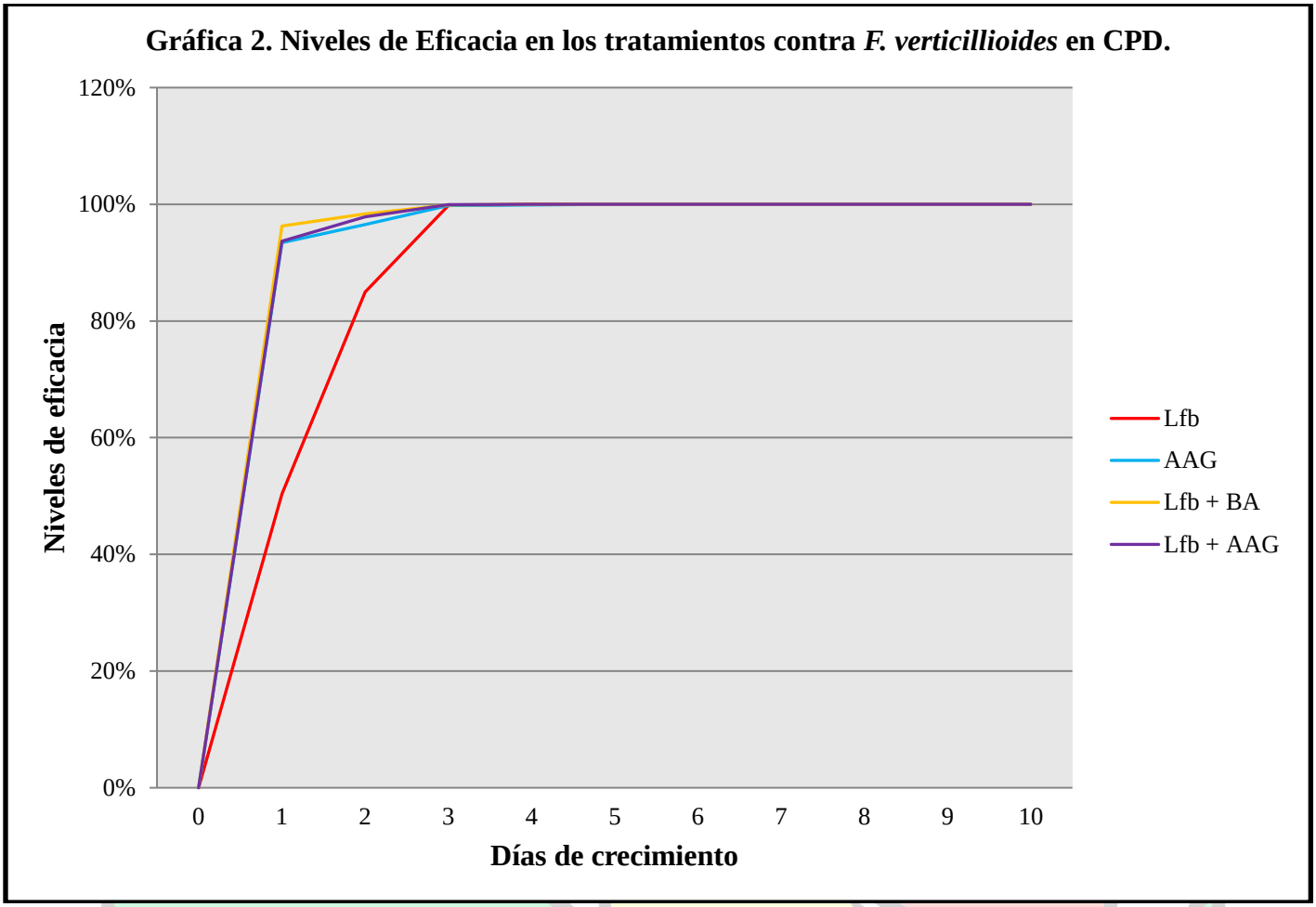
En la Gráfica 1 se muestran los tratamientos con resultados favorables realizados en CPD, podemos observar en CT la curva de producción de esporas, los días 1 y 2 se estabilizó la producción de esporas representando una fase de

latencia, los días 3 – 7 se observa un aumento significativo en su producción, representando una fase exponencial, los días 8 – 10 la producción de esporas disminuyó progresivamente, representando una fase estacionaria con tendencia a muerte. El único tratamiento que no tuvo efectos inhibitorios fue BA. Los efectos de Lfb fueron evidentes desde el día 2, las concentraciones de esporas disminuyeron de forma progresiva hasta el día 4 donde ya no se encontraron esporas. En el caso de AAG los efectos inhibitorios fueron evidentes desde el día 1, las concentraciones de esporas llegaron a 0 para el día 5. La combinación Lfb + BA, tuvo efectos inhibitorios desde el día 1, las concentraciones de esporas también llegaron a 0 el día 5. Por último, la combinación de Lfb + AAG también mostro efectos inhibitorios desde el día 1, las concentraciones disminuyeron progresivamente hasta llegar a 0 el día 4.



En el eje de las X se encuentran los días de crecimiento y en el eje de las Y la concentración de esporas por ml.

Se establecieron los niveles de eficiencia de los tratamientos en CPD, destacando Lfb, AAG , Lfb + BA y Lfb + AAG, estos tratamientos llegaron a un nivel de eficiencia del 100 % a las 72 hrs, el tratamiento que tuvo mayor eficacia a las 24 hrs fue Lfb + BA (96 %), seguido de los tratamientos Lfb + AAG (94 %) y AAG (93 %), esto se puede observar en la gráfica 2.

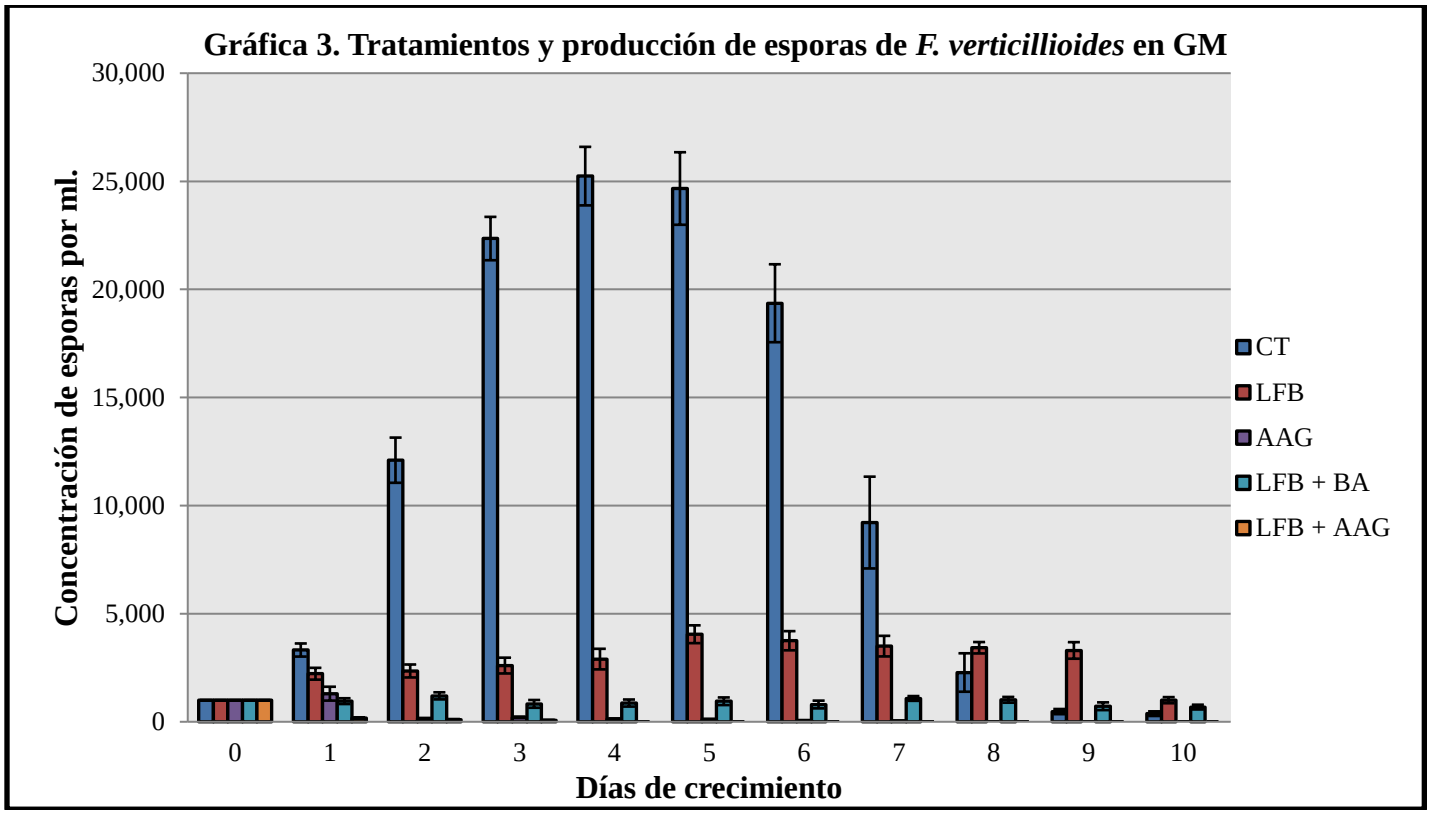


En el eje de las X se encuentran los días de crecimiento y en el eje de las Y los niveles de eficacia de cada tratamiento con efectos inhibitorios.

En la Gráfica 3 se muestran los tratamientos con resultados favorables realizados en GM, podemos observar en CT la curva de producción de esporas, el día 1 se estabilizó la producción de esporas representando una fase de latencia, los días 2 – 4 se observa un aumento significativo en su producción, representando una fase exponencial, los días 5 y 6 comienza a disminuir la producción de esporas progresivamente, representando una fase estacionaria y a partir del día 7 – 10 la producción de esporas disminuyó drásticamente representando una fase de muerte.

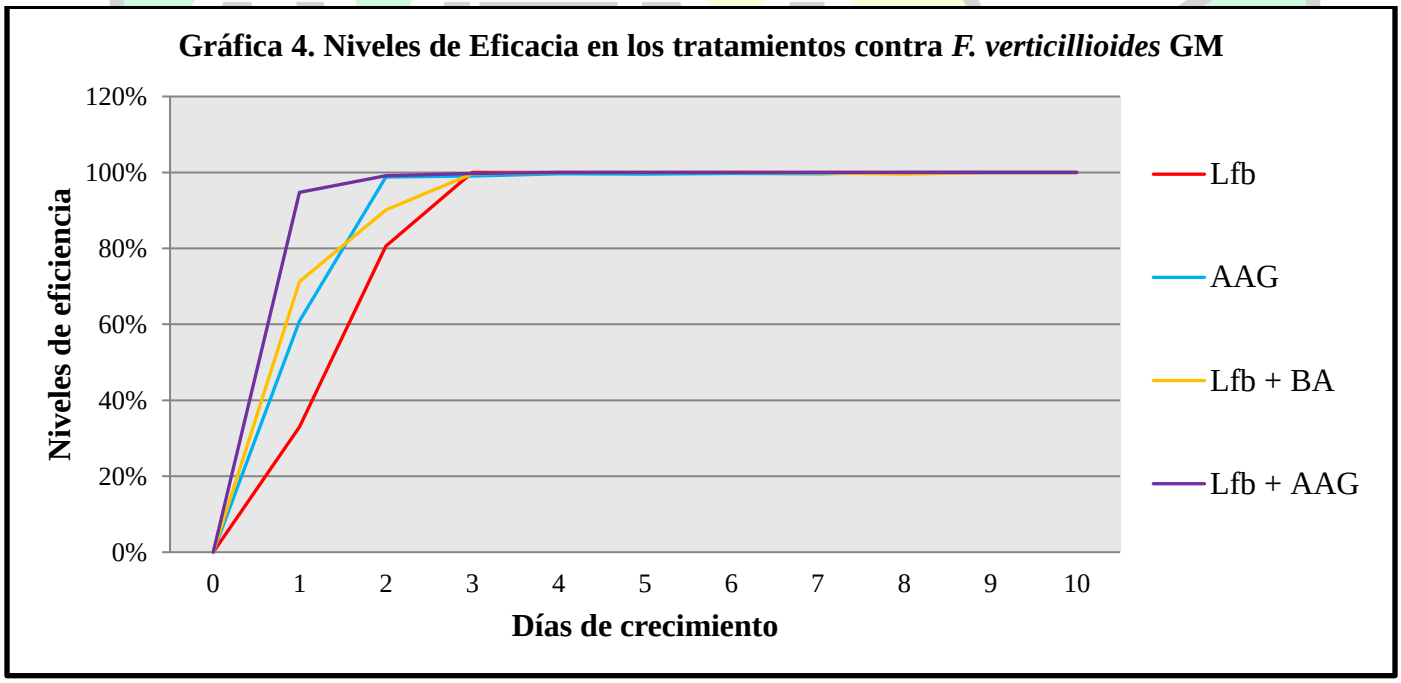
El único tratamiento que no tuvo efectos inhibitorios fue BA. Los efectos de Lfb fueron evidentes, se observó una menor concentración de esporas durante los primeros 7 días. En el caso de AAG los efectos inhibitorios fueron evidentes desde el día 1, las concentraciones de esporas llegaron a 0 progresivamente para el día 8. La combinación Lfb + BA, tuvo efectos inhibitorios desde el día 1, las concentraciones de esporas fueron variables y nunca presentaron algún aumento exponencial. Por último, la combinación de Lfb + AAG también mostro efectos inhibitorios desde el día 1, las concentraciones disminuyeron progresivamente hasta llegar a 0 el día 4.

AVEM
Avicepecialistas de México



En el eje de las X se encuentran los días de crecimiento y en el eje de las Y la concentración de esporas por ml.

Se establecieron los niveles de eficiencia de los tratamientos en GM, destacando Lfb, AAG , Lfb + BA y Lfb + AAG, estos tratamientos llegaron a un nivel de eficiencia del 100 % a las 72 hrs, el tratamiento que tuvo mayor eficacia a las 24 hrs fue Lfb + AAG (95 %), seguido de los tratamientos Lfb + BA (71 %) y AAG (61 %), esto se puede observar en la gráfica 4.



A pesar de que en los tratamientos de Lfb realizados en GM se encontraron muestras con esporas durante los 10 días, se determinó que la efectividad de inhibición fue del 100 % pasando las 72 horas, esto lo sustenta las pruebas de viabilidad realizadas los días 4 y 8 de crecimiento. Los resultados fueron iguales los 2 días donde se tomó muestra, el único tratamiento que mostró crecimiento a las 24 – 72 hrs de su inoculación fue BA tanto los días 4 y 8 en ambos medios de cultivo.

Discusión

Es importante resaltar que este es el primer estudio en hacer uso conjunto de Lfb y BA junto con AAG, además de ser de los primeros en reportar los efectos de Lfb, BA, Lfb + BA y Lfb + AAG sobre *F. verticillioides* en condiciones *In vitro*. A pesar de no haber estudios que coincidan rigurosamente con las condiciones y las variables de estos experimentos, se determinaron los efectos para cada tratamiento de acuerdo con la producción de esporas y las pruebas de viabilidad.
La Lfb tiene un efecto fungicida a concentraciones de 1.8 µM (CPD) y 3 µM (GM), al transcurrir 72 hrs de la aplicación del tratamiento. Actualmente no existe algún otro trabajo donde se haya buscado inhibir el crecimiento de *F. verticillioides* usando Lfb, aunque sí se han realizado estudios de Lf en otras especies de *Fusarium*, tal es el caso de Han y col., en 2012, demostraron que Lfb tiene un efecto fungicida en *F. graminearum*, incluso a concentraciones más bajas que las empleadas en este estudio, ellos usaron extractos proteicos de trigo transgénico capaz de expresar a Lfb a concentraciones de 0.25 – 0.80 nM/mg (0.00025 - 0.00080 µM) de tejido de hoja, que había sido previamente inoculado con esporas de F. graminearum, para realizar un ensayo de difusión en gel en agar, al igual que este estudio una vez que pasaron 8 días determinaron que las esporas eran inviables [5] .

Se han clasificado diferentes mecanismos por los que la Lf tiene actividad antifúngica, los estudios que proponen dichos mecanismos fueron realizados en diversas especies fúngicas, mayormente en levaduras, en la mayoría se usa Lactoferrina proveniente de humanos, a pesar de eso no se descarta que, *F. verticillioides* haya sufrido alguno de los mecanismos que se discutirán a continuación, ya que comparte algunas características (estructurales y fisiológicas) que son generales para los hongos y dichas características están relacionadas con los mecanismos antifúngicos de la Lf.

Es posible que Lfb haya interactuado con las hifas de *F. verticillioides* y que la producción de esporas se vio afectada por los mecanismos antifúngicos de Lfb, los cuales además del secuestro de hierro, pueden incluir una alteración directa con la superficie fúngica (pared celular y membrana plasmática); Nikawa y col., en 1993, usaron Lfh concentraciones más bajas a las empleadas en este estudio, de 0.06 µM, 0.12 µM y 0.24 µM para inhibir el crecimiento de *Candida albicans* y *Candida krusei*, estas fueron inoculadas a una concentración de 5000 U.F.C., junto con Lfh, observando diversos niveles de efectividad que son similares a los obtenidos en este estudio (50 – 100 %), en la inhibición del crecimiento de las levaduras, que van desde el 50 al 98 %, además mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), observaron que en las cepas de *C. albicans* y *C. krusei* más susceptibles tratadas con Lfh, había ampollas superficiales y agregados similares a ampollas en la superficie celular [6] .

Los estudios más recientes sugieren que en adición a los efectos de Lf, está tiene como blanco la proteína translocadora de protones ATPasa (H+-ATPasa), estas proteínas de membrana tienen un papel importante en la fisiología fúngica, de manera general, regulan el crecimiento celular, el pH intracelular y la actividad de las serina/treonina proteincinasas, mediante la producción y el mantenimiento de un gradiente electroquímico de protones transmembranal que impulsa la captación de una serie de iones y nutrientes, lamentablemente la función y la regulación de estas proteínas ha sido poco estudiada en hongos filamentosos, aunque se ha documentado la posibilidad de que estas proteínas puedan regular la biosíntesis de metabolitos secundarios (micotoxinas), en *Salvia miltiorrhiza,* la proteína de membrana plasmática SmPHA4, regula negativamente la biosíntesis de tanshinones, por otro lado en *F. graminearum* se han asociado estas proteínas con la vía biosintética de DON, aunque se requieren mayores estudios para comprender mejor esta función, y además se desconoce cuáles sean las proteínas translocadoras de protones de *F. verticillioides*, se infirió que, posiblemente Lfb haya afectado a las proteínas del hongo, ya que existen estás proteínas en una especie similar (*F.*

graminearum), en 2016, Andrés y col., usaron Lfh a concentraciones de 5 µM (ligeramente mayores a las de este estudio) en cultivos de *S. cerevisiae* y *C. albicans*, de manera similar, observaron una inhibición de la viabilidad del 93 – 96 % y además, observaron que la Lf inhibe la proteína Pma1p, provocando acumulación de protones como consecuencia del metabolismo activo, disminución del pH, salida de K+, mediada por sus propios canales K+ y la despolarización de la membrana. La salida de K+ citoplasmático facilitó el flujo de salida de K+ desde la matriz mitocondrial a través del antiportador mitocondrial K+/H+, lo que facilitó la acidificación de la matriz mitocondrial debido a la salida de K+ mitocondrial que podría compensarse con la reentrada masiva de H+ a través de la ATPasa (ATP sintasa mitocondrial), estableciendo dos bucles de retroalimentación positiva acoplados de K+/H+ citoplásmico y mitocondrial. La supuesta acidificación intramitocondrial (inundación de protones mitocondriales) es la señal crítica y desencadenante que conduce a los pasos posteriores de muerte celular apoptótica [3] [7].

En cuanto a los resultados de BA ,estos no fueron favorables, *F. verticillioides* produjo esporas con mayor vigor en ambos medios de cultivo, además de que las esporas de los tratamientos resultaron viables a las 24 hrs para CPD y a las 48 hrs para GM. Actualmente no existe algún trabajo que haya usado BA en *F. verticillioides*, no obstante, las razones por las que no funcionó el tratamiento pueden ser explicadas por un estudio de Punja y Grogan, en 1982 realizaron un estudio con *Sclerotium rolfsii*, donde se observó que BA en concentraciones mayores a las de este estudio, (10, 30 y 50 mM) al estar en un pH alto (8 – 14) aumenta la concentración relativa de HCO_3 así como de NH_3 y en pH bajo (0 – 7) aumenta la concentración de CO_2 y NH_4. El efecto fungicida de BA esta mediado por el pH, al aumentar la concentración relativa de HCO_3 alcaliniza el medio aumentando la prevalencia de NH_3, el cual es identificado como el principal compuesto tóxico [8]. En 1990, Depasquale y Montville realizaron un estudio sobre el mecanismo de acción por el cual BA inhiben el crecimiento fúngico, usaron sales de sulfato de amonio y BA a concentraciones mayores a las de este estudio, 110 mM en cultivos de *P.griseofulvum* y *F.graminearum* en CPD bufferado, calcularon las concentraciones de amoniaco libre en un rango de pH de 7.8 – 8.7 y demostraron que los efectos fungicidas de estos compuestos nitrogenados se deben al aumento de NH_3, el % de germinación de los hongos fue disminuyendo conforme aumentaba la concentración de NH_3. BA no presentó efectos inhibitorios en la producción de esporas de *F. verticillioides* a 10 días de crecimiento en un rango de pH 5.8 – 7.4, se considera que se necesitan realizar estudios con condiciones similares a las que se han reportado estos efectos inhibitorios asociados a pH altos >8.0 [9].

Con respecto a los resultados del tratamiento AAG, estos fueron favorables, se logró inhibir la producción de esporas al 100 % y las esporas de estos tratamientos resultaron inviables para ambos medios de cultivo.
De manera similar, en 2021, Gergolet-Díaz y col., usaron ácido acético, pero de origen orgánico a una concentración mayor a la de este estudio, de 1 mM en cultivos de *F. verticillioides* observando una inhibición del 100 % del hongo [10].

Los efectos antifúngicos del ácido acético han sido estudiados, se atribuyen a un valor alto de pKa (pKa = 4.75), que puede generar una concentración mucho mayor en su forma no disociada, se cree que esta forma es capaz de atravesar la membrana y disociarse en la célula, lo que provoca una reducción del pH [11] [12].

Para los tratamientos donde se utilizó Lfb en conjunto con BA y AAG, en ambas combinaciones los resultados fueron favorables, se logró inhibir la producción de esporas y su viabilidad, la eficacia de los tratamientos en conjunto fue mayor a la de cada tratamiento realizado de manera solitaria.
Al usar Lfb + BA se generó una respuesta de sinergia en la inhibición de producción de esporas, como se mencionó anteriormente el efecto fungicida de BA depende de la concentración de amoniaco libre y esto se logra aumentando el valor del pH, tomando en cuenta las mediciones de pH es posible que Lfb favoreció el pH hacia la alcalinidad, ejerciendo un efecto de "buffer" , sobre todo en CPD cuyas características son ácidas, el rango de pH de ambos tratamientos fue de 7.7 - 9.0, es posible que se haya favorecido la disociación de BA a HCO_3 y NH_3, tal como en el trabajo de Depasqualle y Montville, en 1990, usaron BA a 110 mM (mayor a la concentración empleada) en cultivos de *P.griseofulvum* y *F.graminearum* en CPD bufferado, calcularon las concentraciones de amoniaco libre en un rango de pH de 7.8 – 8.7 y demostraron que los efectos fungicidas de estos compuestos nitrogenados se deben al aumento de NH3 [9].

AVEM
Aviespecialistas de México

Una de las mayores dudas que se tuvo al realizar el experimento, fue el usar Lfb + AAG, ya que la funcionalidad de Lfb puede variar al interactuar en medios con condiciones ácidas, durante el tratamiento los efectos inhibitorios fueron similares a los del tratamiento AAG por sí solo, aunque la adición de Lfb generó una inhibición más eficaz, se descarta que AAG haya alterado la funcionalidad de Lfb, ya que existen estudios como los de Abe y col., en 1991, realizaron un estudio sobre la integridad y la funcionalidad de Lfb en condiciones ácidas, determinaron que a un pH de 4.0 (AAG pH 4.0) Lfb se mantiene estable, resiste sin perder de forma significativa la capacidad de ligar hierro [13] .
Tomando en cuenta lo anterior, es posible que el uso conjunto de Lfb y AAG, generó una respuesta de sinergia en los efectos inhibitorios del tratamiento, el uso conjunto de Lfb + AAG parece prometedor, aunque para entender mejor los alcances de esta interacción se requieren más estudios.

Conclusiones

El efecto de Lfb sobre *F. verticillioides* resultó ser fungicida al 100 % a las 72 hrs de su aplicación tanto en medio CPD (1.8 µM) como GM (3 µM), Lfb logró disminuir la producción de esporas y las esporas observables restantes resultaron ser inviables.
El tratamiento AAG (54 µM CPD y 90 µM) presentó un efecto fungicida a las 48 hrs en CPD y a las 72 hrs en GM, se logró inhibir la producción de esporas y las esporas restantes resultaron ser inviables.
El usó de Lfb (2 µM GM y 1.4 µM CPD) en conjunto con AAG y BA (10 µM CPD y 30 µM GM) produjo una mayor eficacia en la inhibición de la producción de esporas a las 24 hrs de sus tratamientos en solitario, la interacción de ambas moléculas también generó una sinergia.
Se determinó el efecto del tratamiento BA (54 µM CPD y 90 µM GM), esté no presentó efectos inhibitorios durante los 10 días del tratamiento contrariamente *F. verticillioides* produjo esporas con mayor vigor, debido a que las condiciones ambientales no favorecieron la disociación de BA a HCO_3 y NH_3.

Referencias

[1] M. C. J. Reyes-Pérez y G. Sánchez-Hernández, Hongos de almacén y análisis de la calidad fisica y fisiologica de semillas, Cuautitlan Izcalli Estado de México: FES Cuautitlán, 2019.

[2] A. Gimeno y M. Martins, Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos, Florida: Special Nutrients, 2011.

[3] M. T. Andrés, M. Acosta-Zaldivar y J. F. Fierro, «Antifungal mechanism of action of lactoferrin: Identification of H+-ATPase (P3A-type) as a new apoptotic-cell membrane receptor,» *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* vol. 60, nº 7, pp. 4206-4216, 2016.

[4] D. Zarzosa-Moreno, C. Avalos-Gómez, L. Ramírez-Texcalco, E. Torres-López, R. Ramírez-Mondragón, J. Hernández-Ramírez, J. Serrano-Luna y M. de la Garza, «Lactoferrin and Its Derived Peptides: An Alternative for Combating Virulence Mechanisms Developed by Pathogens,» *Molecules,* vol. 25, nº 24, p. 5763, 2020.

[5] J. Han, D. K. Lakshman, L. Galvez, S. Mitra, P. Baenziger y A. Mitra, «Transgenic expression of lactoferrin imparts enhanced resistance to head blight of wheat caused by Fusarium graminearum,» *BMC Plant Biol,* vol. 12, nº 1, pp. 1- 9, 2012.

[6] H. Nikawa, L. Samaranayake, J. Tenovuo, K. Pang y T. Hamada, «The fungicidal effect of human lactoferrin on Candida albicans and Candida krusei,» *Archives of oral biology,* vol. 38, nº 12, pp. 1057 - 1063, 1993.

[7] L. Wu, Z. Yuan, P. Wang, X. Mao, M. Zhou y Y. Hou, «The plasma membrane H+ -ATPase FgPMA1 regulates the development, pathogenicity, and phenamacril sensitivity of Fusarium graminearum by interacting with FgMyo-5 and FgBmh2,» *Mol Plant Pathol,* vol. 23, nº 4, pp. 489-502, 2022.

[8] Z. K. Punja y R. G. Grogan, «Effects of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of Sclerotium rolfsii,» *Phytopathology,* vol. 72, nº 6, pp. 635-639, 1982.

AVEM
Aviespecialistas de México

[9] D. A. DePasquale y T. J. Montville, «Mechanism by which ammonium bicarbonate and ammonium sulfate inhibit mycotoxigenic fungi,» *Applied and environmental microbiology,* vol. 56, nº 12, pp. 3711-3717, 1990.

[10] D. Gergolet-Diaz, R. P. Pizzolitto, C. Vázquez, V. L. Usseglio, M. Zunino y e. al., «Effects of the volatile organic compounds produced by Enterococcus spp. strains isolated from maize grain silos on Fusarium verticillioides growth and fumonisin B1 production,» *Journal of Stored Products Research,* vol. 93, pp. 1-9, 2021.

[11] G. Juodeikiene, E. Bartkiene, D. Cernauskas, D. Cizeikiene, D. Zadeike, V. Lele y V. Bartkevics, «Antifungal activity of lactic acid bacteria and their application for Fusarium mycotoxin reduction in malting wheat grains,» *LWT,* vol. 89, pp. 307-314, 2018.

[12] C. Le-Lay, E. Coton, G. Le-Blay, J. Chobert, T. Haertlé, Y. Choiset, N. Van-Long, L. Meslet-Cladière y J. Mounier, «Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria,» *International Journal of Food Microbiology,* vol. 239, pp. 79-85, 2016.

[13] H. Abe, H. Saito, H. Miyakawa, Y. Tamura, S. Shimamura, E. Nagao y M. Tomita, «Heat stability of bovine lactoferrin at acidic pH.,» *Journal of Dairy Science,* vol. 74, nº 1, pp. 65-71, 1991.

AVEM
Aviespecialistas de México

SUPLEMENTACIÓN DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO EN DIETAS CON NIVELES REDUCIDOS DE ENERGÍA Y SU EFECTO SOBRE EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y EL RENDIMIENTO EN CANAL DE POLLOS DE ENGORDA

Richard Alexander Mudarra Hernandez[1]*, Theerawit Poeikhampha[2]
[1]Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Panamá
[2]Universidad de Kasetsart, Departamento de Ciencia Animal, Tailandia
richard.mudarra@up.ac.pa

Resumen
Con el objetivo de evaluar la suplementación del ácido guanidinoacético (AGA) en dietas reducidas de energía (En) y su efecto sobre el desempeño productivo y el rendimiento en canal de pollos de engorda, un total de 1,200 pollos ROSS 308, fueron aleatoriamente asignados a uno de seis tratamientos dietarios: 1) Control positivo 1 (CP1) formulado para suplir o exceder los requerimientos nutricionales establecidos según la guía de manejo nutricional para ROSS 308; 2) control positivo 2 (CP2): similar a CP1 más la adición de 0.6% de ácido guanidinoacético (NTPB®, Numega Nutrition, Singapur); 3) Similar a CP1 menos 100 kcal de energía metabolizable (EM); 4) similar a CP2 menos 100 kcal de EM; 5) Similar a CP1 menos 150 kcal de EM; y 6) Similar a CP2 menos 150 kcal de EM. Los pollos fueron evaluados durante cuatro fases: Inicio (día 0-10); crecimiento (día 11-24); engorda I (día 25-35); y engorda II (día 36 a 42). Durante la fase de inicio, todos los pollos fueron alimentados de una dieta control. Al día 11 del estudio, los pollos fueron asignados a sus respectivas dietas experimentales. En general (d 11-42), los pollos suplementados con AGA mostraron una mayor ganancia diaria de peso (GDP) y menor conversión alimenticia (CA) en comparación a los pollos sin AGA, independientemente del nivel energético (p = 0.01 y p < 0.001, respectivamente). Adicionalmente, La CA aumentó con las reducciones de En, con la mayor CA en los pollos alimentados con dietas de -150 kcal (p < 0.001). Los pollos suplementados con AGA mostraron un menor porcentaje de grasa abdominal en la canal en comparación a los pollos sin AGA (p = 0.02). En conclusión, la suplementación de 0.6 % de AGA mejora la GDP y la CA y reduce la GA en pollos de engorda, en dietas con niveles reducidos de energía.
Palabras Clave: Grasa abdominal, conversión alimenticia, creatina, arginina.

Abstract
With the objective of evaluating the supplementation of guanidinoacetic acid (GAA) in energy-reduced (En) diets and its effect on the performance and carcass yield of broiler chickens, a total of 1,200 ROSS 308 chickens were randomly assigned to one of six dietary treatments: 1) Positive Control 1 (CP1) formulated to meet or exceed the nutritional requirements established according to the nutritional management guide for ROSS 308; 2) positive control 2 (CP2): similar to CP1 plus the addition of 0.6% guanidinoacetic acid (NTPB®, Numega Nutrition, Singapore); 3) Similar to CP1 minus 100 kcal of metabolizable energy (ME); 4) similar to CP2 minus 100 kcal of ME; 5) Similar to CP1 minus 150 kcal ME; and 6) Similar to CP2 minus 150 kcal of ME. Chickens were evaluated during four phases: Starter (day 0-10); grower (day 11-24); finisher I (day 25-35); and finisher II (day 36 to 42). During the starter phase, all chickens were fed a control diet. On day 11 of the study, the chickens were assigned to their respective experimental diets. In general (d 11-42), chickens supplemented with AGA showed greater average weight gain (GDP) and lower feed conversion (CA) compared to chickens without AGA, regardless of energy level (p = 0.01 and p < 0.001 , respectively). Additionally, the CA increased with reductions in En, with the highest AC in chickens fed -150 kcal diets (p < 0.001). Chickens supplemented with AGA showed a lower percentage of abdominal fat in the carcass compared to chickens without AGA (p = 0.02). In conclusion, 0.6% AGA supplementation improves ADG and CA and reduces GA in broilers in diets with reduced energy levels.
Key Words: Abdominal fat, feed conversion, creatine, arginine.

Introducción

La demanda de carne avícola ha aumentado considerablemente debido a la necesidad de proteína animal para consumo humano [1], lo que ha conllevado a la necesidad de optimizar los sistemas de producción para buscar la mayor eficiencia. La adecuada alimentación juega un papel fundamental en la obtención de sistemas productivos eficientes, donde la misma representa el 70% de los costos totales [2], representado principalmente por los ingredientes proteicos y energéticos que componen la dieta [3]. La formulación de dietas con niveles reducidos de proteína y un adecuado balance de aminoácidos

esenciales ha sido utilizado como una estrategia para reducir el costo de la dieta. Sin embargo, en cuanto a la energía, reducciones de sus niveles provoca un rendimiento deficiente asociado al peso corporal y el índice de conversión alimenticia [4]. El nivel de EM en la dieta es uno de los factores principales que juega un papel importante en la regulación del consumo de alimento y la eficiencia alimenticia [5], donde la disponibilidad de energía en los músculos es la clave principal para el crecimiento de los pollos de engorda [6].

A nivel celular, la creatina (Cr) funciona como un tampón de fosfato de alta energía mediante su conversión en fosfocreatina y la posterior restauración de ATP por la enzima creatina quinasa. La creatina ha sido ampliamente estudiada como suplemento nutricional para mejorar el rendimiento físico y deportivo [7]. En la producción animal, también ha sido de interés la utilización de Cr debido a su significativo papel en el metabolismo energético [8]. Sin embargo, su inestabilidad y alto costo disminuyen su aplicación como aditivo alimentario [9]. Recientemente, los atributos favorables de costo y estabilidad molecular del ácido guanidinoacético (AGA), precursor inmediato de la Cr, han llevado a considerarlo como una alternativa a la suplementación de la Cr [10, 11].

En general, la síntesis de AGA requiere la presencia de glicina y L-arginina [11]. Dichos aminoácidos son catalizados por la enzima L-arginina:glicina amidinotransferasa (AGAT), produciendo L-ornitina y AGA. Sin embargo, la cantidad sintetizada podría ser insuficiente para satisfacer la demanda de los pollos de engorda de rápido crecimiento [12].

Basado en la necesidad de encontrar estrategias nutricionales para contrarrestar el alto costo de las fuentes energéticas de la dieta sin afectar el desempeño productivo de los pollos de engorda, y conociendo los beneficios potenciales que juega el AGA en el metabolismo energético celular, este estudio tiene como objetivo evaluar la suplementación de AGA en dietas con diferentes niveles de energía y su respuesta sobre el desempeño productivo y rendimiento en canal de pollos de engorda.

Materiales y Métodos

El estudio fue realizado en un galpón de ambiente controlado, ubicado en la Universidad de Kasetsart, Tailandia. Las condiciones micro ambientales del galpón fueron establecidas según la guía de manejo de los pollos ROSS 308. Se utilizaron 1,200 pollos de la línea ROSS 308 los cuales fueron aleatoriamente asignados a seis tratamientos dietarios con cuatro repeticiones (corral) por tratamiento, y 50 pollos por repetición.

Los tratamientos fueron: 1) Control positivo 1 (CP1) formulado para suplir o exceder los requerimientos nutricionales establecidos para los ROSS 308, según la guía de manejo nutricional; 2) control positivo 2 (CP2): similar a CP1 más la adición de 0.6% de ácido guanidinoacético (NTPB®, Numega Nutrition, Singapur); 3) Similar a CP1 menos 100 kcal de energía metabolizable (EM); 4) similar a CP2 menos 100 kcal de EM; 5) Similar a CP1 menos 150 kcal de EM; y 6) Similar a CP2 menos 150 kcal de En. Las dietas experimentales fueron formuladas en base de maíz y harina de soya, y el alimento fue provisto en forma de pellet (tabla 1 y tabla 2).

Los pollos fueron evaluados mediante las siguientes fases experimentales: Inicio (día 0-10); crecimiento (día 11-24); engorda I (día 25-35); y engorda II (día 36 a 42). Durante la fase de inicio, todos los pollos fueron alimentados de una dieta control. Al día 11 del estudio, los pollos fueron asignados a sus respectivas dietas experimentales.

Al día 11 y al final de cada fase (días 24, 35 y 42) se llevó registro del peso vivo de los pollos de manera individual. Dichos datos fueron utilizados para calcular la ganancia diaria de peso (GDP) de los pollos por fase. Adicionalmente, se llevó registro del consumo de alimento diario por corral, para determinar el consumo de alimento diario (CDA) por pollo en cada fase. Los resultados de CDA y GDP fueron utilizados para determinar la conversión alimenticia por fase.

Al final del estudio se seleccionaron cuatro pollos, con el peso más cercano al peso promedio del corral, y fueron sacrificados para determinar el peso de la canal (peso del pollo sin vísceras, cabeza, plumas, ni patas); rendimiento en canal (Peso de la canal/peso vivo)*100; y porcentaje de grasa abdominal (Peso de la grasa abdominal/ peso vivo)*100.

Los datos fueron evaluados con factorial 2x3 (con o sin NTPB y 3 niveles de de energía; 0, 100, 150, Cal/Kg). La media de cada corral fue utilizada como unidad experimental para el análisis. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey. Valore de $p < 0.5$ fueron consideradas diferencias, mientras que valores de p entre 0.5-0.10 fueron considerados como tendencias a diferir.

Ingredientes, %	Inicio/ Control	Crecimiento			Engorde I y II		
		-0 kcal	-100 kcal	-150 kcal	-0 kcal	-100 kcal	-150 kcal
Maíz	52.936	57.751	59.028	57.350	61.272	63.582	62.670
Aceite de soya	3.527	3.584	2.000	2.000	5.194	3.260	3.000
Harina de soya, 48%	38.534	34.420	34.188	34.428	29.632	29.214	29.376
DL- Metionina	0.191	0.190	0.192	0.194	0.174	0.171	0.172
L- Lisina	0.035	-	0.004	-	0.013	0.022	0.019
$CaCO_3$	1.287	1.192	1.194	1.191	1.099	1.103	1.101
Fosfato- M, 22%	2.098	1.456	1.453	1.457	1.263	1.258	1.260
Sal	0.305	0.313	0.312	0.313	0.317	0.315	0.316
Colina, 60%	0.283	0.267	0.267	0.267	0.250	0.250	0.250
Premezcla vitamínica	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330
Premezcla minerales	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330	0.330
Inhibidor de hongos	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Antioxidante	0.050	0.050	0.050	0.050	0.010	0.010	0.010
Fitasa	-	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
Olote	-	0.060	0.538	1.976	0.060	0.039	1.050
NTPB	-	-	0.06	0.06	-	0.060	0.060
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 1. Composición de dietas experimentales.

Nutriente	Inicio/ Control	Crecimiento			Engorde I y II		
		-0 kcal	-100 kcal	-150 kcal	-0 kcal	-1000 kcal	-150 kcal
Energía Met, Kcal	3000	3100	3000	2950	3250	3150	3100
Proteína Cruda, %	23.000	21.500	21.500	21.500	19.500	19.500	19.500
Proteína Digestible, %	20.981	19.450	19.445	19.451	17.593	17.583	17.587
Grasa, %	5.963	6.135	4.602	4.545	7.799	5.951	5.662
Grasa digestible, %	5.364	5.548	4.091	4.038	7.155	5.400	5.125
Fibra cruda, %	2.561	2.468	2.480	2.465	2.325	2.347	2.339
Calcio, %	0.960	0.870	0.870	0.870	0.790	0.790	0.790
Fósforo total, %	0.818	0.737	0.738	0.737	0.674	0.676	0.675
Fósforo disponible,	0.480	0.435	0.435	0.435	0.395	0.395	0.395
Lisina, %	1.280	1.151	1.150	1.152	1.030	1.030	1.030
Metionina, %	0.576	0.514	0.513	0.514	0.471	0.470	0.471
Metionina + Cisteína, %	0.950	0.870	0.870	0.870	0.800	0.800	0.800
Triptófano, %	0.284	0.262	0.262	0.261	0.234	0.233	0.234
Treonina, %	0.886	0.833	0.833	0.832	0.755	0.755	0.755
Arginina, %	1.555	1.430	1.427	1.424	1.276	1.270	1.273
Valina, %	1.098	1.023	1.022	1.022	0.926	0.926	0.926
Isoleucina, %	1.001	0.932	0.931	0.929	0.837	0.834	0.835
Leucina, %	1.939	1.838	1.843	1.848	1.700	1.709	1.706
Colina, mg/kg	1700	1600	1600	1600	1500	1500	1500

Tabla 2. perfil calculado de las dietas experimentales.

Resultados

Al final de la fase de crecimiento (tabla 3), los resultados indican diferencias significativas entre tratamientos (Tmt) para la ganancia diaria de peso (GDP) (p = 0.006). Adicionalmente, hubo diferencias significativas para los niveles de inclusión de ácido guanidinoacético (AGA) y Energía (En), con la mayor GDP en los pollos suplementados con AGA, mientras que el nivel de mayor reducción de energía (150 kcal) evidenció la menor GDP. Lo obtenido en la GDP soporta los resultados del peso vivo (PV), encontrándose los mismos patrones en cuanto a niveles de AGA y En (p = 0.03 y p = 0.001, respectivamente). En cuanto al consumo diario de alimento (CDA), no se encontraron diferencias significativas entre Tmt, niveles de AGA, En e interacción AGA* En (p < 0.001). Una tendencia a diferir fue encontrada en la conversión alimenticia (CA), con la menor conversión en los pollos alimentados la dieta control más AGA (p = 0.08). Adicionalmente, hubo diferencias significativas para los niveles de En, con un aumento en la C:G a medida que aumenta los niveles de reducción de energía (p = 0.02).

Variable		Reducción de Energía			Media	Valor de p			
		0	100	150		Tmt[+]	AGA[*]	En[#]	AGA* En
Peso Inicial (g) d-11	Sin AGA	331.75±4.29	331.40±12.7	331.67±8.22	331.6	1.0	0.90	0.99	0.99
	Con AGA	332.41±9.01	331.67±10.2	332.35±9.29	332.15				
	Media	332.06	331.54	332.01					
Peso Vivo (g) d-24	Sin AGA	1336.34±13	1348.29±10	1,305.60±31	1330.0[b]	0.006	0.03	0.001	0.87
	Con AGA	1356.59±46	1359.63±17	1323.61±23	1346.6[a]				
	Media	1346.46[a]	1353.96[a]	1314.60[b]					
Ganancia de Peso (g/d)	Sin AGA	71.76±0.67	72.63±0.96	69.57±1.75	71.32[b]	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Con AGA	73.15±2.68	73.42±0.74	70.80±1.55	72.46[a]				
	Media	72.46[b]	73.03[a]	70.19[c]					
Consumo (g/d)	Sin AGA	88.68±1.8	91.72±7.11	90.61±2.48	90.33	0.63	0.95	0.23	0.87
	Con AGA	88.08±5.65	92.90±2.88	89.73±2.25	90.23				
	Media	88.39	92.31	90.17					
CA	Sin AGA	1.24±0.01	1.26±0.11	1.30±0.03	1.26	0.08	0.21	0.02	0.6
	Con AGA	1.20±0.03	1.27±0.04	1.27±0.02	1.24				
	Media	1.22[a]	1.26[ab]	1.28[b]					

Tabla 3. Efectos de la suplementación de AGA sobre el desempeño productivo de pollos de engorda durante la fase de crecimiento.

[+]Tratamiento; [*]Ácido guanidinoacético; [#]Energía

PI = Peso Inicial; PV = Peso vivo; GDP=Ganancia Diaria de Peso; CDA= Consumo Diario de Alimento; CA= Conversión Alimenticia.

Avicespecialistas de México

En cuanto al desempeño productivo en la fase de engorda I (tabla 4), no se encontraron diferencias significativas para la GDP y CDA para Tmt, AGA, En, o la interacción AGA*En (p > 0.05). Sin embargo, hubo una tendencia a diferir entre tratamientos para el PV, con el mayor peso en aquellos tratamientos suplementados con AGA en dieta basal o con reducción de 100 kcal (p = 0.09). Adicionalmente, hubo tendencias a diferir en la misma variable para AGA, con el mayor peso, en promedio, en aquellos pollos suplementados con AGA en comparación a aquellos sin la inclusión de AGA (p = 0.08). Adicionalmente, una tendencia a diferir fue también reportada para En, donde los pollos alimentados con -150kcal, mostraron el menor PV (p = 0.06). Se encontró una tendencia a diferir en la CA para Tmt y AGA (p = 0.10 y p = 0.10), con la menor CA en los pollos suplementados con AGA.

		Reducción de Energía			Media	Valor de *p*			
		0	100	150		Tmt	AGA	En	AGA *En
Peso Vivo (g) d-35	Sin AGA	2,366.59±39	2,386.82±29	2,294.52±21	2349.3	0.09	0.08	0.06	0.52
	Con AGA	2,402.18±118	2,398.70±26	2,365.29±65	2388.7				
	Media	2,384.39	2,392.76	2,329.91					
Ganancia de Peso (g/d)	Sin AGA	93.66±2.85	94.41±3.41	89.90±1.47	92.65	0.56	0.25	0.54	0.53
	Con AGA	95.05±6.63	94.46±3.35	94.70±5.16	94.73				
	Media	94.36	94.44	92.30					
Consumo (g/d)	Sin AGA	154.34±3.57	159.02±3.40	158.58±7.53	157.31	0.90	0.82	0.58	0.84
	Con AGA	155.83±9.90	157.87±3.42	156.38±4.08	156.70				
	Media	155.09	158.45	157.48					
CA	Sin AGA	1.65±0.03	1.69±0.07	1.76±0.08	1.69	0.10	0.10	0.12	0.22
	Con AGA	1.64±0.02	1.67±0.03	1.66±0.12	1.65				
	Media	1.64	1.68	1.71					

Tabla 4. Efectos de la suplementación de AGA sobre el desempeño productivo de pollos de engorda durante la fase de Engorda I.

Se encontró diferencias significativas entre Tmt (p = 0.03) e inclusión de AGA (p = 0.002) en la GDP de la fase final (tabla 5), con una mayor ganancia, en promedio, en los pollos suplementados con AGA. Dichos resultados soportan lo determinado en el PV al final del estudio, donde se encontró diferencias significativas entre tratamientos (p = 0.02), e inclusión de AGA (p = 0.003), con el mayor PV en aquellos tratamientos suplementados con AGA. A pesar de que no se muestran diferencias significativas en el CDA entre Tmt, inclusión de AGA, niveles de En, o la interacción AGA*En (P > 0.059), se encontraron diferencias significativas entre Tmt (p= 0.05) y inclusión de AGA (p = 0.003), con la menor CA, en promedio, en aquellos pollos suplementados con AGA.

		Reducción de Energía			Media	Valor de *p*			
		0	100	150		Tmt	AGA	En	AGA *En
Peso Vivo (g) d-42	Sin AGA	3,070.63±87	3,097.01±51	3,004.56±43	3057.4[b]	0.02	0.003	0.09	0.51
	Con AGA	3,187.82±158	3,146.74±41	3,115.86±71	3150.1[a]				
	Media	3,129.22	3,121.88	3,084.96					
Ganancia de Peso (g/d)	Sin AGA	100.58±8.05	100.72±6.79	101.44±9.12	100.9[b]	0.03	0.002	0.57	0.46
	Con AGA	112.23±5.78	106.86±5.12	107.23±2.88	108.77[a]				
	Media	106.40	104.33	103.79					
Consumo (g/d)	Sin AGA	207.60±8.60	209.06±3.15	220.52±19.8	212.3	0.40	0.16	0.80	0.27
	Con AGA	206.30±11.5	207.60±13.7	201.28±10.4	205.6				
	Media	206.95	208.33	210.90					
CA	Sin AGA	2.08±0.15	2.09±0.17	2.19±0.36	2.11[a]	0.05	0.003	0.59	0.56
	Con AGA	1.84±0.10	1.95±0.15	1.88±0.14	1.88[b]				
	Media	1.96	2.02	2.04					

Tabla 5. Efectos de la suplementación de AGA sobre el desempeño productivo de pollos de engorda durante la fase de Engorda II.

En cuanto al desempeño general (d 11-42; tabla 6), se encontró diferencias significativas entre Tmt (p = 0.01) y nivel de AGA (p = 0.002) con la mayor GDP en los pollos suplementados con AGA. Interesantemente, la CA fue reducida significativamente con la suplementación de AGA en comparación a los pollos sin AGA (1.57 y 1.65, respectivamente). Adicionalmente, hubo diferencias significativas para los niveles de En, con la mayor CA en los pollos alimentados con dietas con reducciones de 150 kcal de energía metabolizable (p < 0.001).

		Reducción de Energía			Media	Valor de p			
		0	100	150		Tmt	AGA	En	AGA *En
Ganancia de Peso (g/d)	Sin AGA	85.59±2.63	86.43±1.39	83.53±1.54	85.18[b]	0.01	0.002	0.06	0.47
	Con AGA	89.23±4.67	87.97±1.44	86.98±2.33	88.06[a]				
	Media	87.41	87.20	85.26					
Consumo (g/d)	Sin AGA	137.27±3.65	140.52±3.9	142.39±7.59	140.06	0.62	0.41	0.48	0.54
	Con AGA	137.24±7.31	140.33±2.6	137.04±3.38	138.2				
	Media	137.25	140.43	139.72					
CA	Sin AGA	1.60±0.03	1.63±0.02	1.71±0.11	1.65[a]	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Con AGA	1.54±0.02	1.60±0.05	1.58±0.08	1.57[b]				
	Media	1.57[c]	1.61[b]	1.64[a]					

Tabla 6. Efectos de la suplementación de AGA sobre el desempeño productivo de pollos de engorda durante la estudio completo (d 11-42).

Los pollos suplementados con AGA tendieron a diferir en el peso de la canal (PC), con un PC de 43 g mayor que los pollos sin la suplementación de AGA. Dichos valores son similares a la diferencia obtenida en el peso vivo final (PVF) de los pollos con y sin suplementación de AGA (52 gr; P = 0.09). Sin embargo, el porcentaje de rendimiento de canal (RC) no se vió influida en este estudio por la inclusión de AGA ni por los niveles de En evaluados. Contrariamente, hubo una reducción en el porcentaje de grasa abdominal (GA), con el menor porcentaje en la canal de los pollos suplementados con AGA (tmt p =0.03; AGA p = 0.02). Adicionalmente, se encontró una reducción en el porcentaje de grasa abdominal en los pollos alimentados con dietas con reducciones de 150 kcal (tabla 7).

		Reducción de Energía			Media	Valor de p			
		0	100	150		Tmt	AGA	En	AGA *En
PVF	Sin AGA	3,039.88±80	3,059.25±97	3,046.13±137	3048.42	0.39	0.09	0.51	0.61
	Con AGA	3,118.7±169	3,128.6±46	3,056.13±40	3101.1				
	Media	3,079.31	3,093.94						
PC	Sin AGA	2,545.7±62	2579.6±73	2539.7±102	2555.0	0.08	0.06	0.08	0.43
	Con AGA	2621.5±132	2629±42	2544.9±39	2598.5				
	Media	2583.63	2604.31	2542.31					
RC, %	Sin AGA	83.75±0.44	84.34±1.27	83.39±0.95	83.83	0.70	0.96	0.28	0.83
	Con AGA	84.09±1.88	84.04±1.7	83.29±1.97	83.81				
	Media	83.92	84.19	83.34					
GA,%	Sin AGA	1.52±0.32	1.62±0.26	1.18±0.25	1.44[a]	0.003	0.02	0.01	0.03
	Con AGA	1.40± 0.37	1.20±0.25	1.23±0.29	1.27[b]				
	Media	1.46[a]	1.41[bc]	1.20[c]					

Tabla 7. Efectos de la suplementación de AGA sobre el rendimiento de la canal de pollos de engorda al final del estudio.
PVF= Peso vivo final; PC= Peso de la Canal; RC= Rendimiento de canal; GA= Grasa Abdominal.

Discusión

En el presente estudio, la suplementación de 0.6% de AGA mejoró la GDP y PV en todas las fases evaluadas, principalmente, en la fase final dando como resultado a una GDP de 7.87 g (7.23%) y PV final de 92.7 g (2.94%) mayor en comparación a las dietas sin la inclusión de AGA. Notablemente, a medida que se reducen los niveles de energía, se ve afectado el PV final. Sin embargo, los tratamientos con AGA en niveles reducidos de energía, son numéricamente mayores que sus respectivos controles. Resultados similares fueron reportados por El-Faham et al. [13] donde la suplementación de 0.6% de AGA mejoró la GDP y PV final (35 días). Similarmente, Ringel et al. [14] evaluó la suplementación de AGA en dietas compuestas con fuentes vegetales versus fuentes con inclusión de harina de carne y hueso, encontrando una GDP similar, pero una mejor CA en los pollos suplementados con AGA. El mecanismo por el cual AGA influye el rendimiento de los pollos de engorda no es claramente establecido en la actualidad. Sin embargo, algunas posibles razones que se indican es la alta y variable demanda energética del tejido muscular, conlleva a una eficiente utilización de AGA como precursor de la creatina para satisfacer la demanda energética a nivel celular, tal como lo establece Michiels et al. [15] la suplementación con dietas exclusivamente vegetales sin creatina en animales de rápido crecimiento hace que AGA puede restaurar las reservas de creatina, mejorando así el metabolismo energético de los tejidos y el crecimiento corporal. Adicionalmente, otro modo de acción de GAA puede estar asociado con el metabolismo de los aminoácidos y la suplementación con GAA puede ahorrar arginina, uno de los aminoácidos potencialmente limitantes en dietas bajas en proteínas para pollos de engorda [16].

A pesar de que el CDA no mostró cambios sustanciales ejercidos por la suplementación de AGA, los pollos suplementados con AGA mostraron, numéricamente, un consumo menor o similar a los tratamientos sin AGA, independientemente del nivel energético. Resultados similares fueron reportados por Mousavi et al. [17] donde no encontró diferencias significativas entre los grupos tratados con AGA y la dieta basal. La baja respuesta en el consumo de alimento puede deberse a una mejor utilización de la energía en pollos alimentados con dietas suplementadas con AGA. A pesar de que el CDA no se vio influenciado por la suplementación de AGA, las mayores diferencias en respuesta son notables en la CA, con una reducción más marcada a medida que los pollos crecían, con una reducción del 10.9% de CA en la fase final (2.11 Vs 1.88; día 35-42), y de manera general una reducción del 4.85% (1.65 vs 1.57; d 11-42). Nuestro resultados coincide por lo reportado por Ringe et al. [14], donde la suplementación de 0.6% de AGA redujo la CA en un 4.48 %.

En cuanto a las características de la canal, la suplementación de AGA reduce los niveles de acumulación de GA en pollos de rápido crecimiento, favoreciendo los procesos de industrialización, con un 11.8% menos de GA. Sin embargo, parece indicar que la suplementación de AGA no ejerce cambios en el rendimiento de la canal. Resultados similares fueron reportados por Mousavi et al. [17], donde la inclusión de 0% y 0,06% de AGA no influyó sobre el rendimiento de la canal. Sim embargo, en el estudio de Mousavi et al. [17], no se encontró diferencias en la grasa abdominal lo que discrepa con nuestro estudio.

Conclusión

la suplementación de 0.6 % de AGA mejora la GDP y la CA y reduce la GA en pollos de engorda, en dietas con niveles reducidos de energía.

Referencias

[1] E. A. Saleh. 2004. “Effects of dietary nutrient density on performance 526 and carcass quality of male broilers grown for further processing," *Int J Poult Sci*. vol. 3, 2004.

[2] F. L. Law I. Zulkifli, A. F. Soleimani, J. B. Liang, and E. A. Awad, “The effects of low-protein diets and protease supplementation on broiler chickens in hot and humid tropical environment,” *Asian-Aust. J Anim Sci*., vol. 31, 2018.

[3] Y. Hai-ming, W. Wei, W. Zhi-yue, Y. Zhi, W. Yan, H. Bang-hong, H. Kai-hua, L. Hao, ”Effects of early energy and protein restriction on growth performance, clinical blood parameters, carcass yield, and tibia parameters of broilers,” *J. of Integrative Agriculture,* vol. 15 , 2015.

[4] H. B. Salem, and Smith, T, “Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments”, *Small ruminant research, vol.* 77, 2008.

[5] G. Lopez, S. Leeson, “Review: energy partitioning in broiler chickens,” *Can. J. Anim. Sci*, vol. 88, 2008.

[6] A. J. Lemme, H. S. Ringel, H. Rostagno, and M. S. Redshaw, “Supplemental guanidino acetic acid improved feed conversion, weight gain, and breast meat yield in male and female broilers,” 16th European Symposium on Poultry Nutrition, 2007a.

[7] J. J. Barber, A. Y. McDermott, K. J. McGaughey, J. D. Olmstead, T. A. Hagobian, “Effects of combined creatine and sodium bicarbonate supplementation on repeated sprint performance in trained men,” *J Strength Cond Res,* vol. 27, 2013, 10.1519/JSC.0b013e318252f6b7.

[8] R. E. Austic, M. C. Nesheim, “Arginine and creatine interrelationships in the chick,” *Poult Sci*. vol. 51, 1972.

[9] Y. Han, H. Suzuki, C. M. Parsons, D. H. Baker, "Amino acid fortification of a low protein corn–soybean meal diet for maximal weight gain and feed efficiency of the chick," *Poult Sci,* vol. 71, 1992.
[10] D. H. Baker, "Advances in protein–amino acid nutrition of poultry," *Amino Acids,* vol. 37, 2009, 10. 1007/s00726-008-0198-3.
[11] K, Bloch., R, Schoenheimer, "The biological origin of the amidine group in creatine," *J Biol Chem*, vol. 6, 1940, 10.1016/S0021-9258(18)73239-0.
[12] A. Lemme, J. Ringel, A. Sterk, J. F. Young, "Supplemental guanidino acetic acid affects energy metabolism of broilers" in Proc. XVI Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Strasbourg, France, 2007b.
[13] E. R. Afonso, R. A. Nacimento, J. C. P. Palliares, and A. H. Gameiro, "How can nutritional strategies and feed technologies in pig production affect the logistical costs of manure distribution?," *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 49, 2020, doi: 10.37496/RBZ4920190045.
[14] J. Ringel, A. Lemme, L. F. Araujo, "The effect of supplemental guanidine acetic acid in Brazilian type broiler diets at summer conditions," *Poultry Sci,* vol. 87, 2008.
[15] J. Michiels, L. Maertens, J. Buyse, A. Lemme, M. Rademacher, N. A. Dierick, and S. De Smet, "Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: Effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism," *Poult Sci,* vol. 91, 2012.
[16] D. H. Baker, "Advances in protein-amino acid nutrition of poultry," *Amino Acids*, vol. 37, 2009.
[17] S. N. Mousavi, A. Afsar, H. Lotfollahian, "Effects of guanidinoacetic acid supplementation to broiler diets with varying energy contents," *Journal of Applied Poultry Research,* vol. 22,2013.

AVEM
Aviespecialistas de México

UNA SOLUCIÓN FITÓGENA Y FICOGÉNICA ENCAPSULADA MEJORA EL RENDIMIENTO DE LOS POLLOS DE ENGORDE Y LAS FUNCIONES DIGESTIVAS

Stephanie Ladirat [1], Ahmed Elolimy [2,5], Mosad M. Hashim [3], Salah A. El-Safty [4], AbdelRahman YM Abdelhady [4], Mohamed Shourrap [4], Mahmoud Madkour [2]

[1] NUQO SAS, Francia
[2] Departamento de Producción Animal, Centro Nacional de Investigación, Giza, Egipto
[3] Casa de Investigación de Alimentación Aplicada (AFRH), Comunidad Orabi, Qalyobia, Egipto
[4] Departamento de Producción Avícola, Facultad de Agricultura, Universidad Ain Shams, El Cairo, Egipto
[5] Departamento de Agricultura Integrativa, Universidad de los Emiratos Árabes Unidos, Abu Dhabi, Emiratos Árabes Unidos
Ladirat.Stephanie@nuqo.eu

RESUMEN

En la producción de pollos de engorde, se utilizan cada vez más soluciones naturales que promueven la salud para apoyar la salud intestinal y mejorar el rendimiento del crecimiento animal. El objetivo de este ensayo fue estudiar los efectos de una solución encapsulada que contiene una mezcla de fitógenos (timol, cinamaldehído, eugenol) y ficogénicos (Ascophyllum nodosum) (NUQO © NEX, NUQO, Francia) sobre el rendimiento del crecimiento, la actividad enzimática endógena, el intestino. Morfología y expresión genética de transportadores de nutrientes en pollos de engorde. La prueba se llevó a cabo durante 35 días utilizando pollos de engorde Arbor Acres, recién nacidos. Los pollitos de un día se asignaron aleatoriamente a dos grupos, ya sea alimentados con una dieta de control (CO) o una dieta suplementada con la solución encapsulada (NQ). Cada grupo tuvo 10 réplicas de 25 aves cada una. La solución encapsulada se añadió a razón de 100 g/tonelada de alimentación. Los parámetros zootécnicos se registraron semanalmente a nivel de corral, mientras que se recogieron digestas de yeyuno y muestras de tejido y sangre de un ave por corral. Todos los datos se analizaron utilizando el procedimiento UNIVARIADO de SAS 9.4 (SAS Institute Inc.). La significancia se determinó en $P \leq 0,05$.

En el día 35, las aves alimentadas con NQ tuvieron una mejor eficiencia alimenticia en comparación con las aves alimentadas con CO ($P < 0,05$). La actividad de la amilasa y la actividad de la lipasa también mejoraron en las aves alimentadas con NQ en comparación con las aves alimentadas con CO. Además, la morfología del yeyuno mejoró en las aves alimentadas con NQ en comparación con las aves alimentadas con CO ($P < 0,05$), incluido el grosor de la capa muscular, la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas. . Los datos de expresión génica mostraron una regulación positiva del cotransportador 1 de sodio-glucosa (SGLT1) de 1,4 veces ($P < 0,05$). Finalmente, en línea con la regulación positiva de los genes transportadores, el nivel de glucosa e insulina aumentó en el plasma de las aves alimentadas con NQ. En conjunto, los resultados mostraron que la suplementación con la solución encapsulada mejoró las funciones digestivas de las aves, lo que se atribuiría a una mejor eficiencia alimenticia. Los efectos observados pueden deberse a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de los componentes activos y sus efectos moduladores del potencial receptor vanilloide transitorio tipo 1. En general, la solución es una herramienta prometedora para apoyar el crecimiento de los pollos de engorde.

Palabras clave: Ficogénicos, Fitógenos, Pollos de engorde, Rendimiento, Salud intestinal, Funciones digestivas

Introducción

Se prevé que la demanda de proteínas de origen animal aumentará a nivel mundial a 152 Mt para 2030, y se espera que la carne de aves represente la mitad del crecimiento proyectado (52%) [1]. Los antibióticos se han utilizado ampliamente como mediadores de la salud y promotores del crecimiento en la producción animal durante más de 70 años, pero la creciente preocupación por la resistencia a los antimicrobianos ha llevado a muchos países a prohibir o reducir su uso [2]. Por lo tanto, el interés y la demanda de alternativas naturales a los promotores del crecimiento y la salud están aumentando para satisfacer el aumento previsto en la producción avícola. Se han utilizado numerosas estrategias para mantener el rendimiento; incluidos probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, enzimas, arcilla y fitógenos [3] [4]. Se ha demostrado que los extractos de plantas, o fitógenos, muestran algunos efectos beneficiosos observados con los promotores del crecimiento, aunque provienen de fuentes naturales [4]. De manera similar, un número cada vez mayor de investigaciones ha demostrado que la mezcla de alimento con algas puede afectar positivamente el rendimiento del crecimiento y la salud de los animales [5] [6]. Aunque las alternativas de aditivos alimentarios mencionadas anteriormente se utilizaron ampliamente con efectos beneficiosos evidentes, el uso dietético de una mezcla combinada de fitógenos y ficogénicos aún es limitado. El objetivo de este ensayo fue estudiar los efectos de una solución encapsulada que contiene

AVEM Aviespecialistas de México

una mezcla de fitógenos (timol, cinamaldehído, eugenol) y ficogénicos (Ascophyllum nodosum) sobre el rendimiento del crecimiento, la actividad enzimática endógena, la morfología intestinal, los biomarcadores sanguíneos y la expresión genética de nutrientes. transportadores en pollos de engorde.

Materiales y métodos

1. Prueba de aves

El ensayo se llevó a cabo en Applied Feed Research House (AFRH) en la ciudad de Obor, El Cairo, Egipto, durante 35 días. Los pollos de engorde de Arbor Acres fueron alimentados con una dieta típica egipcia de 3 fases (inicio/crecimiento/finalización) durante 35 días. Los ingredientes principales fueron maíz y harina de soja. Todas las dietas contenían fitasa, enzimas polisacáridos sin almidón y aglutinantes de toxinas. Las dietas de inicio y crecimiento también incluían un coccidiostato pero ningún promotor de crecimiento. Todos los niveles de inclusión fueron los prescritos por los respectivos fabricantes en todas las dietas. La composición nutricional de las dietas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 2: Composición nutricional de la dieta basal.

	INICIO	PRODUCTOR	ACABADOR
PROTEÍNA CRUDA, %	22,5	20.0	18.0
ENERGÍA METABOLIZADA, KCAL/KG	2950	3050	3150
ÁCIDO LINOLEICO, %	1,40	1.74	2.06
CALCIO, %	0,90	0,90	0,85
FÓSFORO DISPONIBLE, %	0,50	0,48	0,45
LISINA, %	1.360	1.252	1.087
METIONINA, %	0.604	0.578	0,474

Los pollitos de un día (n=500) fueron asignados aleatoriamente a dos grupos, ya sea alimentados con una dieta de control (CO) o una dieta suplementada con una solución encapsulada que contenía una mezcla de fitógenos (timol, cinamaldehído, eugenol) y ficogénicos (Ascophyllum nodosum). (NUQO © NEX, NUQO, Francia) a 100 g/tonelada de pienso (NQ). Cada grupo tuvo 10 réplicas de 25 aves cada una.

2. Mediciones y análisis estadístico.

El rendimiento zootécnico (peso corporal final, aumento de peso corporal, consumo de alimento y eficiencia alimenticia) se midió débilmente por corral. La mortalidad se registró diariamente. Se recolectaron muestras de duodeno y yeyuno, muestras de tejido yeyuno y muestras de sangre de un ave por corral para evaluar la actividad enzimática endógena, la morfología intestinal, la expresión genética de los transportadores de glucosa y la concentración de biomarcadores sanguíneos.

Para determinar la actividad enzimática endógena, los contenidos extraídos del duodeno y el yeyuno se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido en la granja y se almacenaron en el laboratorio a -80 °C hasta su uso. La preparación de la muestra de digesto incluyó dilución en tampón Tris-HCl/CaCl2, homogeneización, centrifugación y nueva congelación instantánea del sobrenadante. Luego se midieron las actividades de amilasa y lipasa usando kits de diagnóstico (Spinreact, Santa Coloma, España), mientras que la actividad de proteasa se midió usando un kit ELISA de proteasa (AssayGenie, Dublín, Irlanda) de acuerdo con las pautas del fabricante.

Para la morfología intestinal, los segmentos recolectados del yeyuno se deshidrataron, se aclararon y se incluyeron en parafina después de una fijación de 24 h en formalina tamponada. Luego se cortaron en secciones seriadas a 5 mm de profundidad para su posterior tinción. La altura de las vellosidades (VH) y la profundidad de las criptas (CD) se determinaron utilizando un microscopio óptico equipado con un sistema morfométrico asistido por computadora.

AVEM Aviespecialistas de México

Para la expresión génica, se extrajo, precipitó, purificó el ARN total y se evaluó su calidad y cantidad. Luego se transformó el ARN total (4 microgramos) en ADNc y se diluyó hasta las concentraciones adecuadas. Se diseñaron pares de cebadores específicos para el ARNm de los genes seleccionados utilizando el software Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-bast). Luego se midió la expresión génica mediante análisis de qPCR. Se utilizó b-actina de pollo como control interno. Todos los experimentos de qRT-PCR se realizaron por triplicado, y se determinaron los valores del umbral de ciclo promedio (Ct) y las puntuaciones de Delta-Ct para las transcripciones de genes en cada muestra se normalizaron utilizando puntuaciones de Delta-Ct para b-actina y se expresaron como el pliegue cambio en la expresión genética. Todos los datos se analizaron utilizando el procedimiento UNIVARIADO de SAS 9.4 (SAS Institute Inc.). La significancia se determinó en $P \leq 0,05$.

Resultados

3. Actuación zootécnica

Los efectos de la solución fitógena y ficogénica encapsulada (NQ) sobre El rendimiento de los pollos de engorde se muestra en la Tabla 3. El día 35, no hubo efecto sobre el peso corporal, pero las aves alimentadas con NQ tuvieron una mejor eficiencia alimenticia en comparación con las aves alimentadas con CO (*P <0,05*) .

Tabla 4: Rendimiento del crecimiento (d1-35) de pollos de engorde alimentados con una dieta control (CO) o una solución fitogénica y ficogénica encapsulada.

	CO	NQ	SEM	valores p
Fase completa (1-35 días)				
PIB (g)	61,69	61,76	0,87	0,95
IMAD (g)	95.10	92,83	1.28	0,18
FCR	1.51	1,48	0,01	0,02
Mortalidad (%)	2.73	1.36		

4. Actividad enzimática endógena

Los efectos de la solución fitógena y ficogénica (NQ) encapsulada sobre las enzimas endógenas se estudiaron en muestras de digesta de yeyuno y se muestran en la Tabla 5. La actividad de la amilasa (*P < 0,05*) y la actividad de la lipasa (*P < 0.1*) aumentaron en las aves alimentadas con NQ en comparación con las aves alimentadas con CO. Sin embargo, no hubo ningún efecto sobre la actividad de la proteasa.

Tabla 6: Parámetros histológicos del yeyuno de pollos de engorde alimentados con una dieta control (CO) o una solución fitogénica y ficogénica encapsulada a los 35 días de edad.

Enzima	CO	NQ	SEM	valor p
Amilasa U/L	382.20	514.90	40,92	0,03
Lipasa U/L	125.30	162,50	14.75	0,07
Proteasa ng/mL	9.55	9.64	0,93	0,95

5. Morfología intestinal

Los resultados de los análisis de muestras de tejido de yeyuno sobre la morfología intestinal se muestran en la Tabla 7. La alimentación de las aves con NQ mejoró el grosor de la capa muscular, la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas en comparación con el CO (*P <0,05*). Sin embargo, el grupo de control tendió a tener una mayor relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas *(P <0,1).*

Tabla 8: Parámetros histológicos del yeyuno de pollos de engorde alimentados con una dieta control (CO) o una solución fitogénica y ficogénica encapsulada a los 35 días de edad.

	CO	NQ	SEM	valor *p*
Profundidad muscular (µm)	165,60	195,70	3.97	<0,01
Profundidad de la cripta (µm)	159,40	169.20	3.46	0,04
Altura de las vellosidades (µm)	1004.70	1046.70	14.55	0,04
Altura de las vellosidades: profundidad de la cripta	6.49	6.16	0,15	0,07

6. Absorción de nutrientes

Los efectos de la solución fitógena y ficogénica (NQ) encapsulada sobre la expresión genética de los transportadores de glucosa y la concentración de biomarcadores plasmáticos se muestran en la Tabla 9. Complementar la dieta con NQ aumentó la expresión genética de SGLT1 (cotransportador 1 de sodio-glucosa) en 1,4 veces *(P <0,05)* . Aunque no se detectó que el aumento de GLUT2 (transportador 2 de glucosa por difusión facilitada) de 1,3 veces fuera significativo, es del mismo orden de magnitud que SGLT1. Además, en línea con la regulación positiva de estos dos genes, el nivel de glucosa e insulina aumentó en el plasma de las aves alimentadas con NQ *(P <0,05)* .

Tabla 10: Expresión genética de transportadores de glucosa en yeyuno y concentración de biomarcadores plasmáticos de pollos de engorde alimentados con una dieta control (CO) o una solución fitógena y ficogénica encapsulada a los 35 días de edad.

	CO	NQ	SEM	valor p
genes				
Cotransportador sodio/glucosa 1	0,97	1.34	0,14	0,04
Transportador de glucosa 2	0,87	1.17	0,31	0,40
Biomarcadores plasmáticos				
Glucosa mg/dL	62,42	113.00	11.12	<0,01
Insulina ng/mL	1.44	3.57	0,56	<0,01

Discusión

En este período de prueba de 35 días, se estudiaron por primera vez los efectos de una solución encapsulada que contiene una mezcla de fitógenos y ficogénicos sobre el rendimiento del crecimiento en pollos de engorde. La suplementación en el alimento con la solución microencapsulada dio como resultado un FCR promedio de 3,0 puntos mejor en comparación con las aves de control. Muchos estudios han demostrado el impacto positivo de las algas solas y una combinación de fitógenos como timol, cinamaldehído y eugenol en BWG y FCR.[5] [6] [7] [8], mientras que otros estudios no mostraron ningún efecto. Las discrepancias pueden deberse al tipo y dosis de los fitógenos o ficogénicos suplementados, pero también a la tecnología utilizada para administrar los componentes activos en el lugar correcto del intestino delgado. Aquí, la combinación fitógeno-ficogénica encapsulada mostró un claro efecto sobre la eficiencia alimenticia en pollos de engorde, lo que indica una composición y galénica apropiada.

A lo largo de los años se han destacado varios modos de acción, incluidas las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de los componentes activos, tanto fitógenos como ficogénicos.[9] [10] [11]. En este estudio, la atención se centró en las funciones digestivas, es decir, la actividad enzimática endógena, la morfología intestinal y la expresión genética de los transportadores de glucosa en pollos de engorde. La digestibilidad es el resultado de una mejor digestión y una mejor absorción. En cuanto a la digestión, la solución encapsulada mejoró la actividad de la lipasa y la amilasa, pero no la de la proteasa, lo que indica un mayor potencial para la digestión del almidón y los lípidos. En estudios anteriores se informó de una mejora de la actividad enzimática endógena [8]. Existen discrepancias con respecto a qué enzimas aumentan la actividad, lo que puede deberse a la variabilidad de los componentes activos utilizados y las diferentes condiciones de prueba. Un metaanálisis reciente concluyó que los aceites esenciales tienen efectos positivos sobre la digestibilidad de la materia seca, la proteína cruda y el extracto etéreo [9]. Los resultados de este estudio sobre la actividad de la lipasa están en línea con los resultados informados sobre el aumento de la digestibilidad del extracto etéreo, pero difieren de los resultados sobre la mejora de la digestibilidad de la proteína cruda. Se necesita más información sobre la absorción de péptidos y aminoácidos para comprender completamente el efecto de la solución encapsulada sobre la digestibilidad de

AVEM Aviespecialistas de México

las proteínas. Con respecto a la absorción, la solución fitógena y ficogénica encapsulada aumentó la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas, lo que indica una mejor morfología intestinal general y un mayor potencial de absorción. Además, también mejoró la expresión genética de los transportadores de glucosa. Se ha demostrado que los aceites esenciales activan el canal del miembro 1 de la subfamilia vanilloide del canal potencial del receptor transitorio (TRPV1) [12], que participa en la regulación del metabolismo de la glucosa. También se ha informado que las laminarinas, un componente activo presente en el ascophylum nodosum, mejoran la absorción de glucosa mediante la activación de la proteína quinasa activada por AMP [13]. Combinados con el mayor nivel de glucosa e insulina en la sangre, estos resultados confirmaron el efecto positivo de la combinación fitógeno-ficogénica sobre la absorción de glucosa.

En conjunto, todos los datos apuntan hacia evidencias de que la solución encapsulada de fitógenos y ficogénicos mejoró las funciones digestivas (digestión y absorción) de las aves y mejoró la eficiencia alimenticia de las aves . Se necesitan más estudios para investigar los efectos de la solución sobre las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes a nivel intestinal y hepático, así como sobre la microbiota intestinal, para tener una imagen más completa de su modo de acción.

Referencias

[1] OCDE/FAO, Perspectivas agrícolas 2021-2030, París: OECD iLibrary, 2021.

[2] V. Kasimanickam, M. Kasimanickam y R. Kasimanickam., «Uso de antibióticos en la producción animal de alimentos: escalada de la resistencia a los antimicrobianos: ¿Dónde estamos ahora en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos?», *Ciencias Médicas,* vol. 9, nº 1, pág. 14, 2021.

[3] MRT Rahman, I. Fliss y E. Biron, «Perspectivas sobre el desarrollo y usos de alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento en la producción avícola y porcina», *Antibiotics,* vol. 11, nº 6, pág. 766, 2022.

[4] U. Gadde, W. Kim, S. Oh y H. Lillehoj, «Alternativas a los antibióticos para maximizar el rendimiento del crecimiento y la eficiencia alimenticia en aves de corral: una revisión», *Animal Health Research Reviews,* vol. 18, nº 1, págs. 26-45, 2017.

[5] G. Kulshreshtha, MT Hincke, B. Prithiviraj y A. Critchley, «Una revisión de los usos variados de macroalgas como suplementos dietéticos en aves de corral seleccionadas con especial referencia a gallinas ponedoras y pollos de engorde», *Journal of Marine Science and Engineering,* vol. 8, nº 7, pág. 536, 2020.

[6] F. Akinyemi y D. Adewole, «Efectos de los productos de algas pardas sobre el rendimiento del crecimiento, la bioquímica del plasma, la respuesta inmune y la capacidad antioxidante de pollos de engorde desafiados con estrés por calor», *Poultry Science,* vol. 101, nº 12, pág. 102215, 2022.

[7] S. Liu, S. MinHo, W. Yun, J. Lee, C. Lee, W. Kwak, N. Han, H. Kim y C. JinHo, «Efectos de la administración oral de diferentes dosis de aceites esenciales de carvacrol sobre el intestino función de barrera en pollos de engorde.» *Journal of Animal Physioly and Animal Nutrion,* vol. 102, nº 5, págs. 1257-1265, 2018.

[8] M. Gholami-Ahangaran, A. Ahmadi-Dastgerdi, S. Azizi, A. Basiratpour, M. Zokaei y D. Masoud, «Suplementación con timol y carvacrol en la salud y el rendimiento avícola», *Veterinary Medecine Science,* vol. 8, nº 1, págs. 267-288, 2022.

[9] A. Irawan, C. Hidayat, A. Jayanegara y A. Ratriyanto, «Aceites esenciales como aditivos promotores del crecimiento sobre el rendimiento, la digestibilidad de los nutrientes, los microbios cecales y los metabolitos séricos de pollos de engorde: un metanálisis», *Animal Bioscience,* vol . . 34, nº 9, págs. 1499-1513, 2021.

[10] A. Brenes y E. Roura, «Aceites esenciales en la nutrición avícola: Principales efectos y modos de acción», *Ciencia y Tecnología de Alimentación Animal,* vol. 158, nº 1, págs. 1-14, 2010.

[11] T. Wang, R. Jónsdóttir y G. Ólafsdóttir, «Compuestos fenólicos totales, captación de radicales y quelación de metales de extractos de algas marinas islandesas», *Food Chemistry,* vol. 116, pág. 240–248, 2008.

AVEM
Avi especialistas de México

[12] R. Matera, E. Lucchi y L. Valgimigli, «Aceites esenciales vegetales como ingredientes funcionales saludables de nutracéuticos y suplementos dietéticos: una revisión», *Moléculas,* vol. 28, nº 2, pág. 901, 2023.

[13] JH Kim, J. Lee, J. Moon y e. al., «Laminarina de Salicornia herbacea estimula la absorción de glucosa a través de las vías AMPK-p38 MAPK en las células musculares L6», *Natural Product Communications,* vol. 15, nº 3, 2020.

[14]

[15] IO Autor, SP Autor y TR Autor, «Título publicación».

AVEM
Aviespecialistas de México