

SUPLEMENTACIÓN DE OXÍGENO EN LA INCUBACIÓN DE HUEVOS FÉRTILES DE GALLINA CRIOLLA

Oxygen supplementation in the incubation of creole hen fertile egg

Manuel Paredes^{1*}, Irma Bustamante¹

¹ Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.

* Corresponding autor: Manuel Paredes.
E-mail: mparedes@unc.edu.pe

Recibido: 11/06/2022

Aceptado: 23/07/2022

Publicado: 31/07/2022

ABSTRACT

This study evaluated the effect of oxygen supplementation on the hatchability of fertile eggs of the Creole hen at 2718 meter above sea level. The experiment was carried out with 1408 hatching eggs obtained at age different of the breeders (25, 30, 34 and 38 wks.). Eggs were assigned to four incubators with different periods of oxygen supplementation: treatment without oxygen supplementation (SS) and oxygen supplementations at week 1, week 3, and weeks 1 and 3. Body weight, hematocrit, and hemoglobin were determined of embryos of 18 days incubation and newborn chicks. Hatching percentage was calculated based on the number of fertile eggs. Early and late embryonic mortality was determined. From the fertile eggs supplemented with oxygen during the first and third weeks, a higher percentage of hatched chicks (82.60%) and lower embryonic mortality were obtained. In the group SS, a low percentage of hatched chicks (28.32%) and high embryonic mortality were found. Oxygen supplementation to fertile creole hen eggs under hypobaric conditions in the Cajamarca valley did not increase hemoglobin concentration or improve body weight of hatched chicken.

Keywords: artificial incubation, hatchability, embryonic growth, creole chicken.

RESUMEN

El estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto de la suplementación de oxígeno en la incubabilidad de huevos fértiles de la gallina criolla a 2718 msnm. El experimento se realizó con 1408 huevos incubables obtenidos en diferentes edades de la gallina (25, 30, 34 y 38 semanas). Los huevos fueron asignados a cuatro incubadoras con diferentes periodos de suplementación de oxígeno: tratamiento sin suplementación de oxígeno (SS) y suplementaciones de oxígeno en la semana 1, semana 3 y semanas 1 y 3. Se determinó el peso corporal, hematocrito y hemoglobina de los embriones de 18 días de incubación y de los pollos recién eclosionados. Se calculó el porcentaje de eclosión en base al número de huevos fértiles. Se determinó la mortalidad embrionaria temprana y tardía. De los huevos fértiles suplementados con oxígeno durante la primera y tercera semana se obtuvo mayor porcentaje de pollos nacidos (82,60%) y menor mortalidad embrionaria. En el grupo SS se encontró bajo porcentaje de pollos nacidos (28,32%) y alta mortalidad embrionaria. La suplementación de oxígeno a los huevos fértiles de gallina criolla en condiciones hipobáricas del valle de Cajamarca no incrementó la concentración de hemoglobina ni mejoró el peso de los pollos eclosionados.

Palabras clave: incubación artificial, incubabilidad, crecimiento embrionario, pollo criollo.

INTRODUCCION

El control total del proceso de incubación artificial de huevos de aves es crucial para lograr un desarrollo embrionario satisfactorio (Bergoug et al., 2013). El monitoreo del entorno físico de la incubación es determinante para alcanzar buenos indicadores de incubabilidad (da Oliveira et al., 2020); desde la entrada de huevos fértiles a la incubadora hasta la posterior transformación biológica en pollitos de un día (Mesquita et al., 2021). La eficiencia de la incubación se ve particularmente afectada por la fertilidad de los huevos y el manejo de la incubadora (Guo et al., 2021; Araujo et al., 2016). Los intercambios de gases entre el entorno y la máquina incubadora son vitales para el desarrollo embrionario (Onagbesan et al., 2007).

El aire invariablemente contiene 21% de O₂ en cualquier localidad, sin embargo, la presión atmosférica disminuye a medida que la altitud sobre el nivel del mar es mayor. La reducción de la presión barométrica y la presión parcial de O₂ influyen en el intercambio de gases, generando condiciones de hipoxia, hipocapnia y deshidratación (Visschedijk, 2007). Los huevos incubados a gran altitud sobre el nivel del mar están sujetos a desarrollo lento y baja incubabilidad, precisamente debido a la reducción de la presión parcial de O₂ (Girard y Visschedijk, 1987). El oxígeno es uno de los determinantes críticos para el desarrollo embrionario de las aves (Quintana et al., 2013). Antecedentes de investigación muestran resultados entre 31 a 36 % de incubabilidad en huevos fértiles de gallinas tibetanas, alta mortalidad y disfunción cardiovascular del embrión de pollo debido a la deficiencia de oxígeno en condiciones hipobáricas a 2900 msnm (Zhang et al., 2008). En el valle de Cajamarca a 2718 msnm, se logró 33,4 y 36,9% de eclosión en huevos fértiles de gallinas doble propósito y tipo riña, respectivamente (Paredes y Quispe, 2021).

La hipoxia es un estresor conocido que afecta la ontogenia normal, y en su forma severa induce muerte embrionaria y en su forma moderada es menos fatal, con porcentajes aproximadamente iguales de embriones normales, malformados y muertos (Haron et al., 2021). El embrión es bastante capaz de recuperarse de un breve episodio hipóxico agudo, incluso si es grave; sin embargo, las posibilidades de sobrevivir a la hipoxia prolongada son escasas, especialmente al principio y al final de la incubación (Mortorola, 2011). De otro lado durante la hipoxia sostenida, la respuesta eritropoyética del embrión aviar es muy modesta (Mortola, 2009). Varios estudios han expuesto el embrión de pollo a diferentes niveles y duraciones de hipoxia, en varios períodos de desarrollo. Los embriones de pollo tienen mayor consumo de O₂ cuando se exponen a hipoxia crónica durante las fases del día 1 al 6 o del 12 al 18 (Dzialowski et al., 2002). También se ha determinado que los embriones expuestos a hipoxia con O₂ al 15 % durante cualquier período embrionario sufren retraso en su desarrollo. (Chan y Burggren, 2005). Los cambios en el crecimiento normal del embrión de pollo dependen no solo del momento de la hipoxia, sino también de su gravedad; con niveles más bajos de O₂ se altera más el crecimiento y el tamaño (Zhang y Burggren, 2012). La hipoxia leve con 15 % de O₂ es probablemente el nivel de hipoxia más probado, porque representa un desafío hipóxico significativo para el embrión, pero no induce mortalidad excesivamente alta (Dzialowski et al., 2002; Chan y Burggren, 2005; Zhang y

Burggren, 2012). Se reporta que, durante el final del período de incubación, la hipoxia leve provoca una disminución en el consumo de O₂ y afecta el peso al nacer, mientras que la hipoxia severa con 10 % de O₂ afecta la viabilidad del embrión (Szdzyu et al., 2008).

Varios estudios sobre viabilidad de embriones de pollo indican que el período más sensible a la hipoxia es la incubación temprana (Sharma et al., 2006). Durante la incubación de los huevos de pava se ha determinado que existen dos momentos críticos para la respiración embrionaria, el período inicial y después del día 25 (Visschedijk y Rahn, 1981). Estos hallazgos fueron corroborados por Bagley et al. (1990), quienes encontraron aumento de la mortalidad de embriones de pavo en zonas altas ocurrido en los días 4 y 25 de incubación. La presente investigación se desarrolló bajo la hipótesis de que la mejora de las condiciones en los periodos inicial y final de la incubación podría incrementar la incubabilidad de huevos fértiles procedentes de la gallina criolla en zonas altas. El objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de la oxigenación suplementaria de la incubación durante las dos semanas en las que se produciría depresión de la respiración y muerte del embrión de pollo criollo bajo condiciones del valle interandino de Cajamarca a 2718 msnm.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

El estudio se realizó en la sala de incubación de la granja avícola experimental de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias de la Universidad Nacional de Cajamarca (GAE-UNC), a una altitud sobre el nivel del mar de 2718 m, en la provincia de Cajamarca, Perú. En el exterior de las máquinas incubadoras, las temperaturas promedio fueron entre 13,5 y 21,1 °C con una humedad relativa promedio de 67%.

Procedencia de las gallinas reproductoras y de los huevos fértiles

Las gallinas reproductoras que proveyeron huevos fértiles para el presente experimento fueron las gallinas criollas mejoradas obtenidas en la empresa ISAMISA de Lima, Perú, que crecieron desde un día de edad en la GAE-UNC, Cajamarca. A las veinte semanas de edad las gallinas iniciaron la postura y se introdujeron los machos al corral de las hembras a razón de un macho por cada 4 gallinas. Las gallinas fueron alimentadas con pienso de postura con 4% de calcio y 16% de proteína. El primer lote de huevos fértiles para incubar fue colectado de 100 gallinas cuando cumplieron las 25 semanas de edad, el segundo lote de huevos se obtuvo de gallinas de 30 semanas de edad, el tercero de gallinas de 34 semanas y el cuarto lote de huevos de gallinas de 38 semanas.

Incubación y diseño experimental

Se utilizaron cuatro incubadoras de una sola etapa del modelo XM-18D, con una capacidad cada una de 88 huevos. Estas máquinas cuentan con sensores de temperatura ($\pm 0,1$ °C) y de humedad relativa ($\pm 1\%$ de HR). Las mismas máquinas cumplen la función de nacedoras. En cada máquina se realizó el manejo de rutina propio de la incubación, desde la recepción del huevo hasta el retiro de los pollos de las nacedoras. Se tuvieron cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, cada repetición de 88 huevos incubables, los cuales se pesaron inicialmente e identificaron. Los huevos según tratamiento fueron sometidos a suplementación de oxígeno que consistió en

suministrar concentraciones de O₂ a razón de 0.5 litros/minuto generado por un concentrador eléctrico de oxígeno OLV-10-MD adquirido de la empresa Perú MD. El flujo de O₂ se ajustó con un fluxómetro. Las máquinas incubadoras a las que se le proporcionó el O₂ adicional se mantuvieron conectadas al concentrador de O₂, ubicado a una distancia de 5 metros. Las cuatro máquinas incubadoras se mantuvieron a la misma temperatura durante todo el período de incubación, 37,6°C del día 1 al 8, 37,5°C en los días 9 al 11 y 37,2°C desde el día 12 al 21. La humedad relativa se mantuvo en un 60% durante todo el experimento. Este procedimiento se repitió con el segundo, tercer y cuarto lote de huevos fértiles.

El experimento se realizó con 1408 huevos de gallinas criollas puestos en cuatro periodos diferentes, según la edad de las gallinas. Los huevos fueron asignados de acuerdo al diseño completamente al azar a cuatro incubadoras con diferentes periodos de suplementación de oxígeno, lo que dio lugar a cuatro tratamientos: SS: sin suplementación de oxígeno, 1S: suplementación en la semana 1, 3S: suplementación en la semana 3, y 13S: suplementación en las semanas 1 y 3. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, realizándose cada repetición con huevos provenientes de gallinas de 25, 30, 34 y 38 semanas de edad.

Análisis de sangre

Se colectó muestras de sangre proveniente de la vena yugular y arteria carótida de 3 embriones de 18 días de incubación por cada incubadora o repetición. Así se colectó las muestras de los embriones de cada máquina incubadora y se volvió a colectar sangre en los tres periodos restantes de incubación por cada tratamiento. Del mismo modo de cada incubadora se tomaron 2 pollos recién eclosionados y se colectó las muestras de sangre por corte de la vena yugular.

Las muestras de sangre fueron enviadas en tubos de ensayo conteniendo anticoagulante, al Laboratorio del Servicio Nacional de Sanidad Agraria de Cajamarca. Las medidas hematológicas realizadas fueron concentración de hematocrito y hemoglobina. El hematocrito se determinó por centrifugación de sangre en un tubo capilar a 10 000 rpm durante cinco minutos, lo cual separa la sangre en capas. El hematocrito se determinó al dividir el volumen de concentrado de glóbulos rojos por el volumen total de la muestra de sangre. La hemoglobina se midió por el método de la cianometahemoglobina.

Desarrollo embrionario, incubabilidad

Los huevos fértiles antes de colocarse en la bandeja de incubación fueron pesados individualmente en balanza con capacidad de 4 kg y precisión de 0.1g. A los 18 días de incubación los huevos fueron bajados a la bandeja de nacimientos a la vez que se inspeccionó el desarrollo embrionario por visualización trasluz. Se obtuvieron dos embriones de cada máquina incubadora, se les retiró las membranas y cáscara del huevo y fueron pesados. Se controló el peso de los pollitos recién nacidos para obtener el peso promedio de pollo recién nacido.

Después de la eclosión, se obtuvo el número de pollos nacidos que sirvió para calcular el porcentaje de eclosión, en base al número de huevos fértiles. Todos los huevos al final del periodo de incubación (día 23) fueron abiertos para observar el estado y causas de la no eclosión. Se determinó por observación el

número de huevos infértiles cuando no presentaban ningún signo de sangre ni estructuras embrionarias. También se determinó posible mortalidad embrionaria temprana cuando se encontró estructuras corporales y muestras de sangre en no menos de la cuarta parte del huevo; atribuyéndose muerte embrionaria tardía cuando el huevo contenía estructuras que copaban más de la mitad del huevo, con embriones totalmente formados que sólo les faltó eclosionar. En la determinación de mortalidad embrionaria se consideró el procedimiento de embriodiagnóstico sugerido por Aviagen (2010).



Figura 1. (a) Tipo de incubadora XM-18D utilizada en el experimento. (b) Concentrador de oxígeno OLV-10-MD que se conectó a la incubadora para proveer oxígeno adicional. (c) Panel de control de temperatura y humedad que indica las condiciones ambientales a nivel de la bandeja de incubación

Análisis estadístico

Primero se contrastó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk y luego se realizó el análisis de varianza con cuatro tratamientos y cada tratamiento con cuatro repeticiones. Se utilizó el software Statistical Analysis System (SAS, 2014) para el procesamiento de los datos. Cuando se encontró diferencias estadísticas las medias fueron sometidas a pruebas de Duncan.

RESULTADOS

Incubabilidad

En la tabla 1 se muestran los datos del porcentaje de pollos nacidos en relación con el número de huevos incubados, así como el porcentaje de mortalidad embrionaria. Se observan diferencias estadísticas entre tratamientos en cualquiera de los indicadores evaluados ($p < 0.01$). El mejor porcentaje de pollos nacidos y la menor mortalidad embrionaria temprana correspondió al tratamiento 13S. El menor porcentaje de mortalidad embrionaria tardía correspondió a los tratamientos 3S y 13S.

Tabla 1. Medias + desviación estándar (DS) del nacimiento de pollos y muerte embrionaria en la incubación artificial de huevos de gallinas criollas, según tratamientos.

Tratamientos ¹	Pollos Nacidos (%)	Mortalidad Embrionaria Temprana (%)	Mortalidad Embrionaria Tardía (%)
SS	28.32 ± 2.08 ^d	29.36 ± 5.44 ^a	42.32 ± 3.51 ^a
1S	64.59 ± 2.98 ^c	15.78 ± 3.55 ^b	19.63 ± 0.65 ^b
3S	70.00 ± 4.03 ^b	17.05 ± 1.53 ^b	12.95 ± 3.87 ^c
13S	82.60 ± 1.98 ^a	8.11 ± 1.35 ^c	9.29 ± 0.78 ^c
Valor p	<0.001	0.007	0.002

¹ SS: incubación sin suplementación de oxígeno, 1S: incubación con suplementación de oxígeno la primera semana, 3S: incubación con suplementación de oxígeno la tercera semana, 1y3S: incubación con suplementación de oxígeno la primera y tercera semana. a,b,c,d Letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos (p<0.05).

Hematocrito y hemoglobina

En la tabla 2 se presentan los resultados de la determinación de hematocrito y hemoglobina en embriones de 18 días y pollos recién eclosionados. Se observan diferencias estadísticas

entre tratamientos (p<0.05) en los indicadores de hematocrito y hemoglobina del embrión, y hematocrito del pollo. No se encontraron diferencias (p>0.05) entre tratamientos en la hemoglobina del pollo recién nacido

Tabla 2. Medias + desviación estándar del hematocrito y hemoglobina de embriones y pollos eclosionados a partir de huevos de gallinas criollas incubados artificialmente, según tratamientos.

Tratamientos ¹	Hematocrito de embrión (%)	Hematocrito de pollo nacido (%)	Hemoglobina de embrión (g/dL)	Hemoglobina de pollo nacido (g/dL)
SS	39.60 ± 0.74 ^a	40.08 ± 0.53 ^a	9.70 ± 0.14 ^b	10.35 ± 0.24
1S	39.55 ± 0.26 ^a	40.13 ± 0.62 ^a	9.80 ± 0.08 ^b	10.50 ± 0.39
3S	39.03 ± 0.30 ^b	38.70 ± 0.29 ^b	10.05 ± 0.17 ^a	10.10 ± 0.14
13S	38.53 ± 0.40 ^c	38.45 ± 0.44 ^b	10.10 ± 0.18 ^a	10.18 ± 0.17
Valor p	0.027	0.018	0.016	0.114

¹ SS: incubación sin suplementación de oxígeno, 1S: incubación con suplementación de oxígeno en la primera semana, 3S: incubación con suplementación de oxígeno en la tercera semana, 13S: incubación con suplementación de oxígeno en la primera y tercera semana. a,b,c Letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos (p<0.05).

Evolución de pesos de huevo, embrión y pollo nacido

En la tabla 3 se indican los pesos promedio del huevo, peso de embriones a los 18 días y peso del pollo recién nacido. No se

encontraron diferencias estadísticas (p>0.05) entre tratamientos para los indicadores evaluados.

Tabla 3. Medias + desviación estándar de los pesos de huevo, embrión y pollo nacido en incubación artificial a partir de huevos de gallinas criollas, según tratamientos

Tratamientos ¹	Peso de huevo (g)	Peso de embrión de 18 días (g)	Peso de pollo nacido (g)
SS	57.41 ± 3.41	24.43 ± 1.60	33.58 ± 2.19
1S	56.87 ± 3.01	24.68 ± 1.65	33.53 ± 2.14
3S	56.88 ± 2.98	24.65 ± 1.50	34.30 ± 2.25
13S	57.06 ± 3.17	24.68 ± 1.88	34.85 ± 2.70
Valor p	0.713	0.698	0.246

¹ SS: incubación sin suplementación de oxígeno, 1S: incubación con suplementación de oxígeno en la primera semana, 3S: incubación con suplementación de oxígeno en la tercera semana, 13S: incubación con suplementación de oxígeno en la primera y tercera semana.

DISCUSIÓN

Se determinó mayor porcentaje de pollos nacidos en el tratamiento con suplementación de oxígeno en la primera y tercera semana de incubación, y menor cantidad de nacimientos en el grupo SS, posiblemente debido a que se evitó mayores condiciones hipóxicas en el desarrollo embrionario. Del mismo modo se determinó menor mortalidad embrionaria temprana en el tratamiento 13S. La mortalidad embrionaria

tardía fue mayor en el tratamiento SS, seguido del tratamiento 1S. Estos hallazgos reflejan estados de hipoxia en la primera y tercera semana de incubación, lo cual afecta el normal desarrollo embrionario, que de manera severa induce muerte embrionaria (Haron et al., 2021), producida en el caso del grupo SS. La hipoxia fue menos letal por periodos de suplementación de oxígeno en la primera o última semana de incubación en comparación al tratamiento sin ningún periodo de oxigenación extra. De otro lado las condiciones hipóxicas

en la primera semana de incubación podrían ser menos dañinas que la hipoxia en la última semana, al haberse determinado en el presente trabajo mayor número de pollos nacidos en el tratamiento 3S en relación al 1S. Se debe considerar que el embrión puede ser capaz de recuperarse de un episodio hipóxico ligero; sin embargo, las posibilidades de sobrevivir a la hipoxia prolongada son escasas, especialmente al final de la incubación (Mortola, 2011).

La concentración de hemoglobina es un factor importante para asegurar contenido de oxígeno en sangre en la condición hipóxica (Liu et al., 2009). Estudios anteriores demostraron que la concentración de hemoglobina en embriones avícolas se induce a medida que se incrementa la altitud sobre el nivel del mar (Carey et al., 1993). En nuestro estudio, un nivel más alto de hemoglobina se observó en embriones suplementados con oxígeno en la tercera semana de incubación, consistente con informes anteriores. Sin embargo, no se observó diferencias de concentraciones de hemoglobina en los pollos recién nacidos con o sin suplementación de oxígeno en la primera semana o en la última; posiblemente por que un mayor nivel de hemoglobina induce en condiciones de hipoxia pérdida de afinidad por el oxígeno (Peñuela, 2005). Los embriones a los 18 días de incubación sin suplementación de oxígeno y los embriones con suplementación sólo en la primera semana tuvieron niveles de hemoglobina más bajos en comparación con los suplementados con oxígeno en la semana última, periodo que sería de mayor requerimiento de oxígeno, y al inyectarse oxígeno a las máquinas incubadoras generó posiblemente mayor presión de oxígeno para los tejidos, lo que facilita la disociación del oxígeno de las moléculas de hemoglobina (Cristancho et al., 2019). Otra explicación a las diferencias en el hematocrito y hemoglobina de los embriones según tratamientos podrían deberse a que, durante la hipoxia sostenida, la respuesta eritropoyética del embrión aviar es muy baja (Mortola, 2009).

La reducción en el consumo de O₂ durante la hipoxia prolongada es resultado tanto de la reducción del costo de mantenimiento de los tejidos como de la energía ahorrada debido a la reducción del crecimiento corporal (Harón et al., 2021). El consumo de O₂ de los embriones hipóxicos del grupo control ha podido ser menor que el de los tratamientos suplementados, sin embargo, no lo suficiente como para afectar el crecimiento embrionario y el peso corporal, tal como se encontró en el presente estudio, no habiéndose encontrado diferencias en el peso del embrión ni del pollo recién eclosionado; lo cual concuerda con hallazgos reportados por Mortola y Cooney (2008).

CONCLUSIONES

- El proceso de incubación de huevos fértiles suplementado con oxígeno durante las dos semanas críticas (semanas 1 y 3) del desarrollo embrionario produce mayor porcentaje de pollos criollos nacidos y menor mortalidad embrionaria.
- La suplementación de oxígeno en la primera o tercera semana de incubación del huevo fértil de la gallina criolla mejora el porcentaje de pollos nacidos vivos respecto de la incubación sin suplementación de oxígeno.
- La incubación artificial de huevos fértiles de gallina en condiciones hipobáricas del valle de Cajamarca no provoca disminución de la concentración de hemoglobina en el pollo recién nacido, ni la suplementación con oxígeno

altera el peso al nacimiento del pollo proveniente de incubación artificial.

CONFLICTO DE INTERESES

No hay conflictos de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

La concepción y diseño del estudio (MP), adquisición de datos (MP, IB), análisis e interpretación de datos (MP), redacción del artículo (MP), aprobación definitiva de la versión a presentar (MP, IB).

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue realizado en la Granja Avícola Experimental de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, que facilitó el uso de alojamientos, equipos avícolas y servicios básicos.

REFERENCES

- Araujo ICS, Leandro NSM, Mesquita MA, Café MB, Mello HHC, Gonzales E. Effect of Incubator Type and Broiler Breeder Age on Hatchability and Chick Quality. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2016; 18: 17-25. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0146>.
- Aviagen. Como incubadora. Nota técnica 2010. <http://es.aviagen.com/assets/Uploads/Aviagen-ComolnubadoraNov2010SP1.pdf>.
- Bagley LG, Christensen VL. Hatchability, Hematological Indices, and Growth of Turkey Embryos Incubated at High Altitude with Supplemented Oxygen During the First and Fourth Weeks of Incubation. *Poultry Science* 1990; 70:358-365. doi: 10.3382/ps.0700358.
- Bergoug H, Burel C, Guinebretiereg M, Tong Q, Roulston N, Romanini CEB, Exadaktylos V, McGonnell IM, Demmers TGM, Verhelst R, Bahr C, Berckmans D, Eterradossi N. Effect of preincubation and incubation conditions on hatchability, hatch time and hatch window, and effect of post-hatch handling on chick quality at placement. *World's Poult. Sci. J.* 2013; 69: 312-334. <https://doi.org/10.1017/S0043933913000329>.
- Carey C, Dunin-Borkowski O, León-Velarde F, Espinoza D, Monge C. Blood gases, pH and hematology of montane and lowland coot embryos. *Respir. Physiol.* 1993; 93(2):151-163. doi: 10.1016/0034-5687(93)90002-r. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(93\)90002-r](https://doi.org/10.1016/0034-5687(93)90002-r).
- Cristancho E, Serrato M, Böning D. Método simplificado para determinar la curva de disociación de oxígeno (CDO). *Acta biol. Colomb.* 2019, 24(2):354-360. <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v24n2.69420>.
- Chan T, Burggren W. Hypoxic incubation creates differential morphological effects during specific developmental critical windows in the embryo of the chicken (*Gallus gallus*). *Respir. Physiol. Neurobiol* 2005; 145:251-263. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.09.005>.
- da Oliveira G, dos Santos VM, Rodrigues JC, Nascimento ST. Effects of different egg turning frequencies on

- incubation efficiency parameters. *Poultry Science* 2020; 99:4417-4420. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.045>.
- Dzialowski EM, Von Plettenberg D, Elmonoufy NA, Burggren WW. Chronic hypoxia alters the physiological and morphological trajectories of developing chicken embryos. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2002; 131:713–724. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00009-0).
 - Girard H, Visschedijk AHJ. Altitude hypoxemia at 2,800 m does not affect development of the chicken embryo. *J. Exp. Zool. Suppl.* 1987; 1: 365-370. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3110364/>
 - Guo BB, Dai ZC, Ren YH, Zhu HX, Shao XB, Sun AD, Shi ZD. Improvement of goose embryonic and muscular developments by wider angle egg turning during incubation and the regulatory mechanisms. *Poultry Science* 2021; In press. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101477>.
 - Haron A, Ruzal M, Shinder D, Druyan S. 2021. Hypoxia during incubation and its effects on broiler's embryonic development. *Poultry Science* 100:100951. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.048>.
 - Liu C, Zhang LF, Song ML, Bao HG, Zhao CJ, Li N. 2009. Highly efficient dissociation of oxygen from hemoglobin in Tibetan chicken embryos compared with lowland chicken embryos incubated in hypoxia. *Poultry Science* 88:2689–2694. doi: 10.3382/ps.2009-00311. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00311>.
 - Mesquita MA, Araujo ICS, Café MB, Arnhold E, Mascarenhas AG, Carvalho FB, Stringhini JH, Leandro NSM, Gonzales E. Results of hatching and rearing broiler chickens in different incubation systems. *Poultry Science* 2021; 100: 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.028>.
 - Mortola JP. Respiratory mechanics in 1-day old chicken hatchlings and effects of prenatal hypoxia. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2011; 175:357-364. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2010.12.016>.
 - Mortola JP. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2009; 153:359-377. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.041>.
 - Mortola JP, Cooney E. Cost of growth and maintenance in chicken embryos during normoxic or hypoxic conditions. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2008; 162:223-229. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.07.015>.
 - Onagbesan O, Bruggeman V, De Smit L, Debonne M, Witters A, Tona K, Everaert N, Decuyper E. Gas exchange during storage and incubation of avian eggs: Effects on embryogenesis, hatchability, chick quality and post-hatch growth. *World's Poult. Sci. J.* 2007. 63: 557-573. <https://doi.org/10.1017/S0043933907001614>.
 - Paredes M, Quispe T. Eclosión, muerte embrionaria y crecimiento de pollitos en gallinas doble propósito y de riña bajo condiciones hipobáricas naturales. *SpermoVA* 2021; 11(2): 137-143. doi. 10.18548/aspe/0009.19.
 - Peñuela OA. 2005. Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador. *Colomb Med.* 2005; 36: 215-225. <http://www.scielo.org.co/pdf/cm/v36n3/v36n3a12.pdf>.
 - Quintana JA. Avitecnia: Manejo de las aves domésticas más comunes. Ed. Trillas 4ta edición. 2013. México.
 - SAS Institute Inc. JMP Statistics and Graphic Guide. JMP, A Business Unit of SAS Version 12. 2014. NC, USA.
 - Sharma SK, Lucitti JL, Nordman C, Tinney JP, Tobita K, Keller BB. Impact of hypoxia on early chick embryo growth and cardiovascular function. *Pediatr. Res.* 2006; 58:818. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000191579.63339.90>.
 - Sdzuy K, Fong LM, Mortola JP. Oxygenation and establishment of thermogenesis in the avian embryo. *Life Sci.* 2008; 82:50-58. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.10.007>.
 - Visschedijk AHJ. Physics and physiology of incubation. *Br. Poult. Sci.* 2007; 32: 3-20. <https://doi.org/10.1080/00071669108417323>
 - Visschedijk AJJ, Rahn H. Incubation of chicken eggs at high altitude: theoretical consideration of optimal gas composition. *Br. Poult. Sci.* 1981; 22: 451-460. <https://doi.org/10.1080/00071688108447909>.
 - Zhang H, Burggren WW. Hypoxic level and duration differentially affect embryonic organ system development of the chicken (*Gallus gallus*). *Poultry Science* 2012; 91: 3191-3201. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2012-02449>.
 - Zhang H, Wang XT, Chamba Y, Ling Y, Wu CX. Influences of Hypoxia on Hatching Performance in Chickens with Different Genetic Adaptation to High Altitude. *Poultry Science* 2008; 87:2112-2116. doi:10.3382/ps.2008-0012. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0032579119393526>.