COLOR DE CÁSCARA Y OTROS ÍNDICES PRODUCTIVOS COMO INDICADORES DIAGNÓSTICOS EN GALLINAS PONEDORAS.

A. HERNÁNDIZ*

***Director Sanidad Animal en Grupo Huevos Guillén, 46930 Quart de Poblet, Valencia. a.hernandiz@huevosguillen.com**

Ciertos índices productivos en avicultura de puesta pueden actuar como indicadores de diagnóstico precoz al manifestarse previamente a la fase sintomática de un proceso etológico, nutricional o sanitario. En ese sentido, la medición del color de cáscara ha sido utilizada como tal por ciertos equipos de investigación en situaciones experimentales, pero nunca en condiciones comerciales de producción en jaulas enriquecidas. Este trabajo presenta patrones productivos de ciertos índices tras recopilar datos de 20 lotes durante 60 meses en una explotación comercial, con 5 naves iguales en construcción y equipamento (jaulas enriquecidas modelo Big Dutchman Eurovent 1250ª-EU-60, de 60 aves/jaula a 750 cm2), y en la que se clasifican y envasan los huevos mediante máquina Moba Omnia® dotada con dispositivos Egg Inspector®, Crack Detector® y Brown Detector®. Posteriormente se aportan resultados de dos ensayos de control de color de cáscara (realizado mediante colorímetro Minolta y "abanico Cargill") en el que se monitorizan lotes en producción desde la semana 22 y 57 de vida respectivamente, cruzando dicha información con otros índices productivos. Hasta el momento en el que se remite este artículo se han podido realizar 4 mediciones en cada ensayo (una cada 3 semanas), superando en todos ellos el tamaño muestral mínimo (150 huevos) establecido mediante estudios preliminares. Los resultados hasta el momento del primer ensayo muestran cómo aumenta rápidamente el peso medio del huevo, pasando de 55,4 gr. a las 22 semanas hasta 65,6 gr. a las 31 semanas. Este rápido incremento de tamaño coincide con una mejoría significativa del color de cáscara, que pasa de una luminosidad del 57,1 a una del 56,1, de una cromaticidad en rojo-verde que pasa del 27,4 al 29,6, y de una cromaticidad en azul-amarillo que pasa del 18,5 al 19,3. Esto se tradujo en una disminución del porcentaje de huevos "pálidos" (valoración ≤ 10 "abanico Cargill"), que pasó del 34,7% al 20,4%. Este cambio coincide con la tendencia marcada por el patrón productivo de huevos "pálidos" obtenido a través del Brown Detector®, relacionado a su vez con la adaptación de las aves a la oviposición ordenada dentro del nidal de la jaula. Los resultados hasta el momento, en el segundo ensayo, muestran cómo el peso medio del huevo y el color de la cáscara se mantuvieron significativamente estables en las primeras 6 semanas, encontrando en la última medición una reducción significativa del peso medio del huevo (desde los 68,7 gr. hasta los 67,6 gr.) así como un cambio del color de cáscara, que mantuvo la luminosidad (pasó del 57,7 al 57,5) y la cromaticidad en azul-amarillo (pasó del 29,7 al 29,3), pero varió la cromaticidad en rojo-verde (pasando del 19,5 al 18,6). Esto se tradujo en un incremento del porcentaje de huevos "pálidos" (valoración ≤ 10 "abanico Cargill"), que pasó del 20,5% de la semana 57 al 32,4 de la semana 66. Este cambio coincidió con la aparición de un brote de peritonitis-salpingitis colibacilar. En el nuevo marco europeo de producción de huevos en jaulas enriquecidas es necesaria la realización de trabajos de campo adicionales que permitan obtener un nuevo marco referencial sobre indicadores productivos que puedan actuar como indicadores de diagnóstico precoz, para aportar herramientas a los técnicos del sector que permitan mejorar la calidad de los productos ofrecidos al consumidor.

Palabras clave: Gallina ponedora, jaula enriquecida, color de cáscara, colorímetro, abanico de color Cargill.

Shell color and others production indexes as diagnosis indicators in laying hens.

A. HERNANDIZ*[1]

[1] Animal Health manager at Grupo Huevos Guillén, 46930 Quart de Poblet, Valencia, Spain. *Corresponding author: a.hernandiz@huevosguillen.com

---

Some production indexes in laying hens may act as indicators of early diagnosis because they come up previously to symptomatic phase of an ethological, nutritional or health process. In this direction, the shell color measurement has been studied for this purpose by some research teams in experimental situations, but not in commercial production conditions or using enriched cages. This paper presents productive patterns of certain indexes, obtained by production data collect during 60 months from 20 flocks housed in 5 similar sheds (same buildings and same enriched cages Big Dutchman Eurovent 1250 model-EU-60, 60 birds / cage in 750 cm2), that are placed in a commercial farm which classifies and package eggs by Moba Omnia®, equipped with Egg Inspector®, Crack Detector® and Brown Detector® devices. In other hand, we show results from two test control of shell color (made by Minolta colorimeter and "Cargill fan") that are been carried out in two layers flocks, monitored from 22 and 57 weeks of age respectively, also crossing color information with other production indexes. Because color tests are being carried out at present, the results refers to 4 measurements in each trial (one every 3 weeks), collecting in each one more than 150 eggs (the minimum sample size required stablished by some preliminary studies). The results of the first trial show a fast increase of the average egg weight, rising from 55.4 gr. at 22 wk. to 65.6 gr. at 31 wk. This growth in egg size coincides with a significant improvement in shell color, varying the brightness from 57.1 to 56.1, the red-green chromaticity from 27.4 to 29.6, and the blue-yellow chromaticity from 18.5 to 19.3. This changes in chromaticity resulted in a decrease in the percentage of "pale" eggs (rating ≤ 10 "Cargill fan"), which drop from 34.7% to 20.4%. This improvement in shell color is described by the "pale eggs pattern" obtained by production data collect through Brown Detector® device, being this situation related to the ethological changes occurring inside the cage starting laying egg production in order to stablish de correct nest behavior of the hens at the lay time. The results of the second trial show a quite stable egg weight and shell color in the first 6 weeks, finding the last measurement in a significant reduction in egg weight (from 68.7 gr. until 67.6 gr.) and a change in shell color, which kept the brightness (from 57.7 to 57.5) and blue-yellow chromaticity (from 29.7 to 29.3), but ranged chromaticity red-green (from 19.5 to 18.6). This changes in chromaticity resulted in an increase in the percentage of "pale" eggs (rating ≤ 10 "range Cargill"), which rose from 20.5% at 57 wk. to 32.4% at 66 wk. This worsening in shell color occurs previously to the appearance of an outbreak of salpingitis-peritonitis caused by an E.coli. In conclusion, within the new European context of egg-production in enriched cages, further field-studies are needed to develop new and useful diagnosis tools to the laying poultry technicians, in order to perform an early diagnosis, saving animal health and welfare, and reaching the best quality of egg products.

Keywords: laying hen; enriched cages; eggshell color; Minolta colorimeter; Cargill fan color;

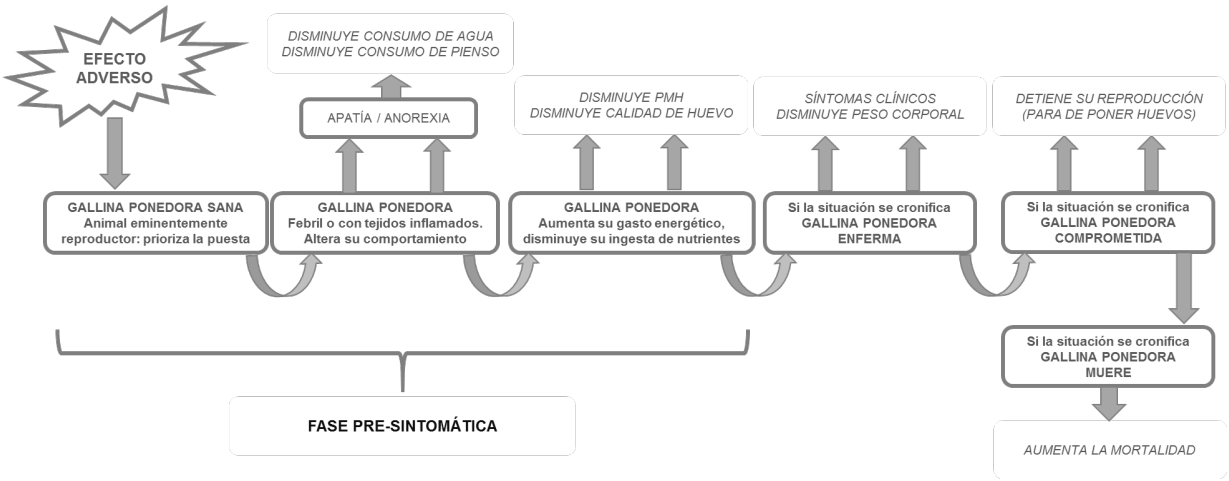
Introducción

Tras los últimos años en los que la industria avícola de puesta de la Unión Europea ha estado produciendo huevos en jaulas enriquecidas, se han acumulado datos sobre genética, etología, diseño de jaulas, manejo y nutrición que, en algunos casos corroboran, y en otros complementan, los resultados que ya

adelantaban los autores (Cepero 2000 y 2006; Cepero *et al*. 2002; Tauson 1998, 2002 y 2005; Fiks-Van Niekerk, 2005; De Reu *et al*. 2009, Guinebretière, M. *et al.* 2009), trabajos (EFSA 2005) y proyectos europeos (Laywel 2004-2006 y Safehouse and Rescape 2006-2009) que se llevaron a cabo antes de la aplicación de la Directiva 99/74/CE, y que aportaron información sobre productividad y calidad de huevos en jaulas enriquecidas. En España, recientemente se presentaron resultados productivos y de calidad de cáscara de explotaciones comerciales (Hernándiz, A., 2013). Estas observaciones pueden recopilarse en una explotación con el fin de modelizar diferentes indicadores a lo largo del ciclo de puesta. Si dicha modelización resulta ser estable y consistente, puede suponer un patrón sobre el que controlar la evolución de los posteriores lotes en producción.

En este sentido, diferentes indicadores como el consumo de pienso y agua, el peso medio del huevo, la ganancia de peso corporal y otros indicadores productivos, suelen ser utilizados como indicadores de posibles alteraciones fisiológicas en cierto porcentaje de animales dentro de la población objetivo (lote de puesta). Teniendo en cuenta la cadena de acontecimientos fisiológicos que suelen acontecer cuando una gallina ponedora enferma (Fig.1), se pueden identificar diversos factores que pueden ser usados como indicadores para un diagnóstico precoz.

Fig.1. Diagrama de flujo de acontecimientos a lo largo del proceso de enfermedad en una gallina ponedora (elaboración propia).



Aquellos eventos que se den en la fase pre-sintomática y que sean susceptibles de ser cuantificados, serán buenos candidatos para ser seleccionados como indicadores en un diagnóstico precoz. En este sentido, el consumo de agua y pienso, así como las variaciones en el peso medio del huevo e indicadores de la calidad del huevo, tomados de forma diaria, serían buenas opciones. Los indicadores de calidad pueden ser medidos diariamente en el momento de la recogida del huevo. Uno de ellos es el color de la cáscara y su dispersión.

El color marrón de la cáscara es una característica de calidad para los consumidores de huevos (Mertens *et al*., 2010; Jones *et al*., 2010). Este color marrón de los huevos proviene de la deposición de porfirinas, que son pigmentos sintetizados a partir de la hemoglobina sanguínea, y depositados como protoporfirinas a través de las células superficiales de la glándula calcífera del oviducto. (Baird *et al*. 1975). Las porfirinas forman complejos con iones de metal como el hierro, el magnesio y el calcio (Ostfeld and Tsutsui, 1974), así que es posible que la ingesta de este tipo de metales pueda influenciar sobre el color de la cáscara. Además de la protoporfirina, la biliverdina es el segundo pigmento de importancia (Mertens *et al*., 2010). La gallina tiene una capacidad constante de secreción de protoporfirina en la glándula calcífera a lo largo del ciclo de puesta, así que la variación de coloración de forma fisiológica está relacionada con el tamaño del huevo, al igual que Roland (1979) comprobó que la menor calidad de cáscara según avanza la edad de la gallina era fruto de una falta de proporcionalidad entre el aumento del peso de huevo y la deposición de carbonato cálcico (Odabasi *et al*., 2007).

Los factores etológicos también son muy determinantes. Hughes *et al*. (1986) Salomon *et al*., (1987), Mills *et al*., (1987a) correlacionaron experimentalmente aumentos en la secreción de adrenalina y/o

epinefrina (mediante efectos estresores o inyecciones subcutáneas) con la aparición de ciertas anomalías en el color y en la forma de las cáscaras de los huevos. Estas variaciones hormonales suelen estar relacionadas con efectos etológicos. Walker *et al*. (1998) encontró un efecto claro del diseño del nidal en jaulas enriquecidas sobre el color de la cáscara, de forma que si aparecía algún factor estresante en el momento de la oviposición, el huevo era retenido por la gallina, depositándose una segunda capa anómala de calcio sobre la cutícula. Recientemente (Hernándiz, 2013), se han aportado datos de campo sobre este aspecto, de forma que esta retención del huevo se puede dar por una concentración del horario de oviposición inherente a la estirpe genética de las aves. Ambas situaciones provocan sobreocupación de los nidales, de forma que las aves, en el momento de la oviposición, encuentran ocupado el nidal, renunciando a la puesta en él, y postergando la oviposición hasta encontrar las condiciones deseables por cada gallina, poniendo huevos de tonalidades anómalas (morados, salpicados o en diana). Según transcurren las semanas, las aves se adaptan a la situación planteada por estos factores y se reduce el estrés del momento de la oviposición, y con ello, el número de huevos anómalos. Cuando se retrasa la oviposición (retención del huevo), se provoca que el huevo sea rodeado por líquidos intrauterinos ricos en iones de calcio y bicarbonato, y ricos en fósforo, precipitando sobre la cáscara las sales de calcio (Nys *et al*., 1991). Estos efectos etológicos sobre el color de la cáscara pueden estar ligados a ciertas poblaciones, encontrando un efecto genético. Jones and Hughes (1986) y Mills *et al*. (1991) comprobaron cómo gallinas con historial previo de problemas de huevos recalcificados solían ser más proclives a ser temerosas y estresables, y determinaron que la puesta de huevos pálidos podía estar también relacionada con factores de estrés que desencadenaban un periodo de formación de la cáscara más rápido.

Además de la edad y la etología, son muchos los factores que pueden variar el color de la cascara de los huevos marrones (Lang and Wells, 1987; Charlton *et al*., 2005): infecciones por patógenos con tropismo reproductor (bronquitis infecciosa, enfermedad de Newcastle, Laringotraqueitis, micoplasmosis o rinotraqueitis por pneumovirus); situaciones de desajuste nutricional de minerales y/u oligoelementos; la irradiación solar directa e intensa; agentes quimioterápicos como sulfamidas o nicarbacina. (Butcher and Miles, 2003), etc.

Aunque varios autores han demostrado que los pigmentos se depositan mayoritariamente en la cutícula en las 3-4 horas previas a la oviposición (Miksik *et al*., 2007; Wang *et al*., 2007, 2009; Nys and Guyot, 2011), un reciente trabajo ha descrito que la mayor parte de estos pigmentos se sitúan más en la parte calcárea de la cáscara del huevo que en la cutícula (Samiullah, 2013). Así, de forma indirecta, al medir el color del huevo, evaluaremos a calidad de la cutícula y de la parte externa de la capa de calcita en empalizada. La cutícula es una fina capa orgánica que recubre externamente la cáscara del huevo. Está compuesta entre un 85 y 90% por proteínas (principalmente glicoproteínas) y, en menor medida por polisacáridos (4%), lípidos (3%) y los pigmentos en los huevos marrones (Wedral *et al*., 1974; Nys *et al*., 1999; Rose-Martel *et al*., 2012). En un reciente estudio (Rodríguez-Navarro, *et al*., 2013) se muestra cómo la cutícula tiene una composición gradual, donde en la parte externa hay una gran proporción de proteínas, y luego una capa de polisacáridos azufrados pegada a la capa interna rica en fosfatos -probablemente en forma de fosfoproteínas (ovocalixina-32 y/o osteopontina)-. La cutícula se observó más gruesa y uniforme en huevos de gallinas jóvenes y más fina e irregular en huevos de gallinas viejas, dejando mucho más al descubierto los poros de la cáscara, lo cual provoca una mayor pérdida de agua e intercambio gaseoso, y por lo tanto, una más rápida degradación del albumen. De igual forma, la cutícula varió su estabilidad a medida que pasaron las horas tras la puesta del huevo. Analizando la evolución de las diferentes capas de la cutícula, se vio que la parte que más varía es la capa de polisacáridos y la de los lípidos. Una menor cantidad de polisacáridos está relacionada con un menor grado de glicosilación de las proteínas de la cutícula, lo cual, a su vez, provoca una reducción en las propiedades mecánicas de la cutícula (capacidad de adhesión a partículas) y por lo tanto una menor resistencia a la penetración de las bacterias al interior del huevo. Una reducción de la cantidad de lípidos de la cutícula provoca una reducción en la actividad antibacteriana y en la resistencia al agua. En sentido aditivo, recientes estudios han identificado en la cutícula diferentes proteínas (ovotransferrina, ovocleidina-17, ovocalixina-32) y compuestos lipídicos con actividad antibacteriana (Wellman-Labadie *et al*., 2008; Rose-Martel *et al*., 2012). De hecho, huevos sin cutícula o con una presencia parcial de la misma, son más susceptibles a las contaminaciones bacterianas (Messens *et al*., 2005; De Reu *et al*., 2006; Bain *et al*., 2013).

Trabajos como los presentados por Mills *et al*. (1987 y 1991), Nys *et al*. (1991), Whittow (1999), Butcher and Miles (2003), Moreno and Osoro, (2003), Moreno *et al*. (2006), Siefferman *et al*. (2006), Kemps (2006), Martínez de la Puente *et al*. (2007) y Mertens *et al*., (2010), han demostrado cómo la medición del color de los huevos puede ser una herramienta muy útil para diagnosticar problemas relacionados con el estrés y/o la salud de las ponedoras comerciales. Odabasi *et al*. (2007) midieron durante 10 meses la variación de color los huevos puestos por gallinas Hy Line en condiciones experimentales mediante una máquina de visión de color. La técnica utilizada era la Colorimetría (escala L*a*b). Se comprobó cómo con la edad, el valor "L" aumentaba progresivamente, el valor "a" disminuía y el "b" sufría pocos cambios. Se encontró pues una elevada correlación entre la progresión del valor "L" y el "a". En este trabajó se realizó una representación gráfica de la evolución gradual del color de la cáscara de los huevos a lo largo de los meses. Mertens *et al*., (2010) presentaron los resultados de tres diferentes experimentos. En el primero de ellos se contrastó la metodología del valor de transmisión de color (TCV, que es una técnica de espectroscopia VIS-NIR) para evaluar el color marrón de los huevos, y lo compararon con las mediciones de colorimetría (L, a, b). Se comprobó que la técnica (que ya se usa en las empresas de selección genética) era sencilla, muy precisa y por lo tanto, aplicable al mundo comercial. En un segundo y tercer experimento se monitorizaron varios lotes pequeños de gallinas para ver cómo, midiendo el color por TCV diariamente, se pueden diagnosticar precozmente problemas relacionados con estrés social, estrés térmico, cambios nutricionales y patologías, incluso mucho antes que otros indicadores habituales.

Varios índices productivos y de calidad pueden ser seleccionados como indicadores de la sanidad, bienestar y estado nutricional de un lote de ponedoras comerciales, siendo el color de la cáscara uno de los más útiles a la hora realizar un diagnóstico precoz en la fase pre-sintomática de un proceso. A pesar de que existe variada bibliografía al respecto de la medición del color de los huevos, y de los factores que pueden alterarlo, existen muy pocos datos tomados en situación de campo en granjas comerciales con jaulas enriquecidas. De igual modo, tampoco existen datos precisos sobre cómo pueden utilizarse estos datos de color y su dispersión dentro de una puesta diaria, como indicadores para un diagnóstico precoz o como indicadores del estado de la cutícula y por tanto, de la integridad real de la capa protectora externa de la cáscara (efecto muy importante en relación a la posible penetración de Salmonella a través de la cáscara).

Material y métodos

Obtención de patrones.

Durante 60 meses se obtuvieron datos productivos de todos los lotes alojados en una explotación avícola comercial situada en Bullas (Murcia), con 5 naves equipadas con jaulas enriquecidas modelo Big Dutchman Eurovent 1250ª-EU-60, de 60 aves/jaula a 750 cm^2. En total se recopilaron datos de 20 lotes distintos (todos ellos con un solo ciclo de puesta), englobando resultados de estirpes Hy-Line Brown, Lohmann Brown e Isa Brown, contemplando para la representación de patrones, los datos comprendidos entre la semana 18 y la 72 de vida. Las aves se alimentaron con pienso en harina en base a cereales (maíz, trigo y cebada), harinas proteicas de origen vegetal (soja y girasol), oleína, carbonato cálcico, fosfato bicálcico, sal, bicarbonato sódico, corrector vitamínico-mineral y aditivos tecnológicos. (las especificaciones nutricionales se pueden solicitar vía e-mail al autor). Los requerimientos nutricionales de las aves se aportaban en base a cuatro tipos de pienso: prepuesta (desde alojamiento a 20 semanas de vida), primera fase (desde 20 hasta 35 semanas de vida), segunda fase (desde 36 hasta 55 semanas de vida) y tercera fase (desde 56 semanas de vida hasta fin de ciclo). Los datos productivos se obtuvieron a través del contaje de máquinas clasificadoras Moba Omnia® con dispositivos Egg Inspector®, Crack Detector® y Brown Detector®. Los porcentajes de huevos sucios, fisurados y pálidos se obtenían para cada nave de los huevos retirados en el miraje por personal cualificado y de los retirados por la máquina a través de sus detectores electrónicos, mientras que el peso medio del huevo se obtuvo directamente del sistema de pesaje de la propia máquina clasificadora. Con toda la información se registraron los datos semanales medios, así como su desviación estándar.

Diseño del estudio.

Este estudio se diseñó para llevarse a cabo en lotes de gallinas ponedoras comerciales alojadas en naves de la explotación anteriormente descrita. En un primer experimento se monitorizaron varios datos productivos y la evolución del color de la cáscara a lo largo de todo el ciclo de puesta de un lote. En un segundo experimento se realizó la misma monitorización sobre un lote de puesta a las 57 semanas de vida. Ambos lotes contaban con unas 136.000 gallinas ponedoras cada uno.

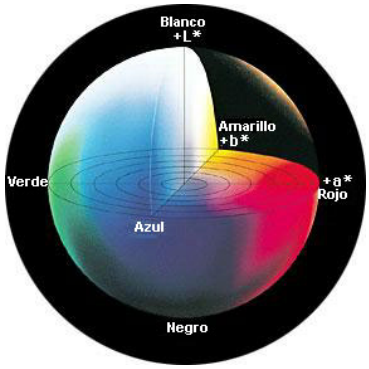
Medida de color de cáscara, tamaño muestral y recolección de huevos.

Mediante un estudio previo se midió el color de la cáscara de varios huevos mediante el "abanico Cargill" (Fig. 2). Los resultados obtenidos en este estudio previo ofrecieron escasa variabilidad de color de cáscara en situaciones de normalidad, sugiriendo la necesidad de optar por métodos más objetivos. Odabasi *et al*. (2007) utilizaron una Máquina de Visión de Color (CVM) para medir el color de la cáscara de los huevos en su estudio sobre un lote de 240 gallinas. Por motivos de recursos, tamaño muestral y practicidad se optó por la medida de color mediante el sistema colorimétrico (cámara Minolta Modelo CR-400) y en el espacio de color CIELAB (Fig. 3). Tal como se muestra abajo, L * indica luminosidad y a * b * son coordenadas de cromaticidad.

En un segundo estudio previo se midió el color de varios huevos de un mismo lote, así como huevos muy variables en color, equivalentes a diferentes colores del "abanico Cargill" (Fig. 4)

Fig. 2. Imagen del "abanico Cargill" así como de los huevos escogidos de diferente color.

Fig. 3. Espacio de color CIELAB.



L = luminosidad

a = coordenadas rojas / verdes (+ a indica rojo, - a indica verde)

b = coordenadas amarillas / azules (+ b indica amarillo, -b indica azul)

Con los datos obtenidos de estas observaciones se obtuvieron variabilidades en los parámetros de colorimetría "L", "a" y "b", que junto con el tamaño de la población a estudio (puesta diaria de huevos), nos permitió establecer un tamaño muestral de 150 huevos por observación. Se desestimó el uso de la fórmula propuesta por Odabasi *et al*. (2007) por las diferencias en el diseño del estudio. Las mismas observaciones de

este segundo estudio previo permitieron relacionar las tonalidades del "abanico Cargill" con huevos reales y con lecturas de colorimetría. De esa forma se podría traducir una lectura Minolta en espacio CEILAB a una tonalidad del "abanico Cargill" para una mejor representación visual de los resultados.

En los dos lotes estudiados, se identificaron 8 jaulas en cada nave con 60 animales cada una, y repartidas por diferentes puntos de la nave. Los muestreos se realizaron cada 21 días. El día anterior al muestreo, posteriormente a la recogida de huevos de ese día (cuando las cintas de recogida se quedaron vacías), se situaron marcadores en las cintas de recogida, justo delante de las jaulas seleccionadas, a fin de que no se mezclasen los huevos con los procedentes de otras jaulas. El día de muestreo se recogieron todos los huevos situados entre las marcas antes de que se pusiera en funcionamiento el sistema de avance de las cintas. Los huevos se depositaron en cartones de celulosa y se trasladaron a un laboratorio para ser analizados, donde el mismo técnico adecuadamente adiestrado realizó todas las mediciones en las mismas condiciones ambientales y de iluminación de la sala.

Análisis estadístico.

Todos los datos obtenidos en este estudio han sido procesados mediante programa Excel® de Microsoft, a fin de obtener los resultados de los test de comparación de medias mediante prueba T-Student y las representaciones gráficas de los patrones productivos.

Resultados y Discusión

Patrones de diagnóstico precoz.

De entre los posibles índices productivos candidatos a ser indicadores de diagnóstico precoz se seleccionaron, por su menor variabilidad, facilidad de seguimiento y fiabilidad: el consumo de pienso, el peso medio del huevo, el porcentaje de huevos sucios, de huevos fisurados y de huevos pálidos (Figuras 4, 5, 6, 7 y 8). Para cada uno de estos índices productivos se construyó un patrón gráfico para el seguimiento de los lotes experimentales.

Fig. 4. Patrón gráfico del consumo de pienso en gallinas alojadas en la explotación.

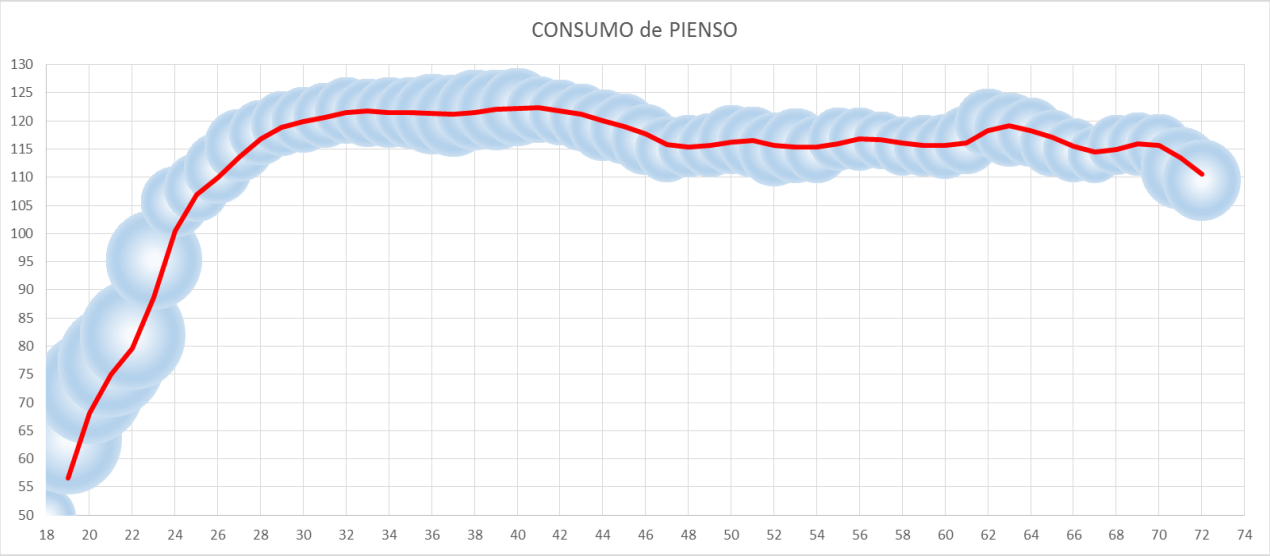


Fig. 5. Patrón gráfico del peso medio del huevo en gallinas alojadas en la explotación.

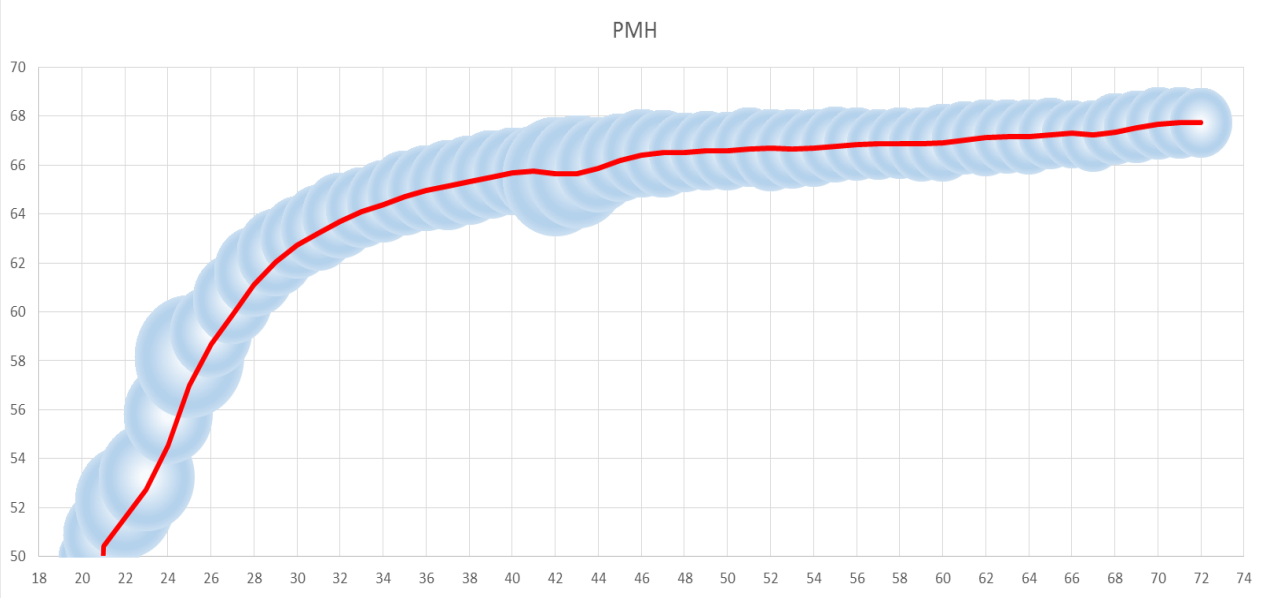
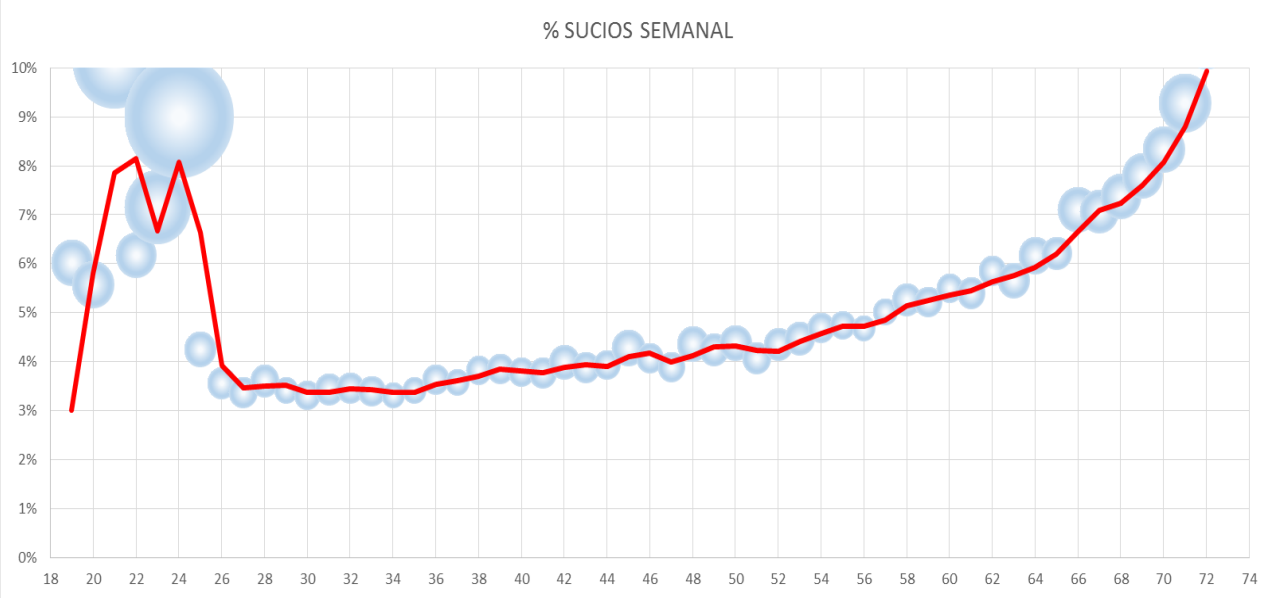


Fig. 6. Patrón gráfico del porcentaje de huevos sucios en gallinas alojadas en la explotación.



Estos datos sobre ingesta de nutrientes se ven reflejados parcialmente en la representación gráfica del peso medio del huevo producido, que progresa adecuadamente según parámetros comerciales en nuestro país, pero que sufre dos puntos de inflexión: uno sobre la semana 40-42 y otro sobre la semana 54-56 (en los que hay un pequeño retroceso y posterior incremento del peso medio del huevo), ambos derivados de los procesos de readaptación de ingesta de nutrientes en el momento del cambio de tipo de pienso.

Fig. 7. Patrón gráfico del porcentaje de huevos fisurados en gallinas alojadas en la explotación.

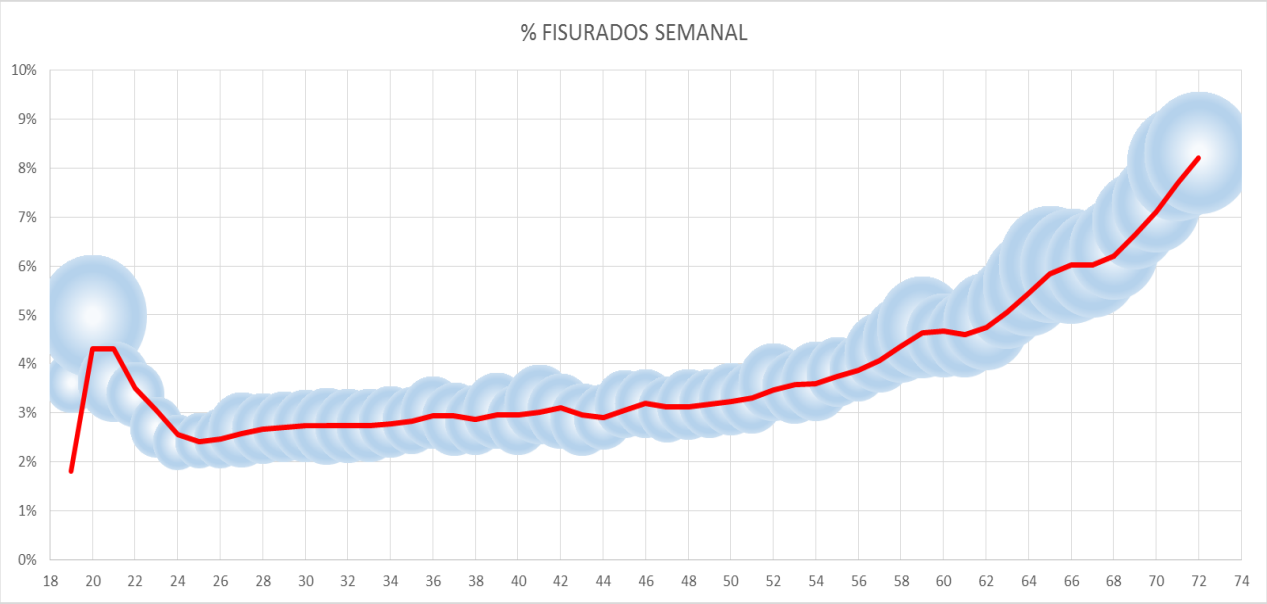
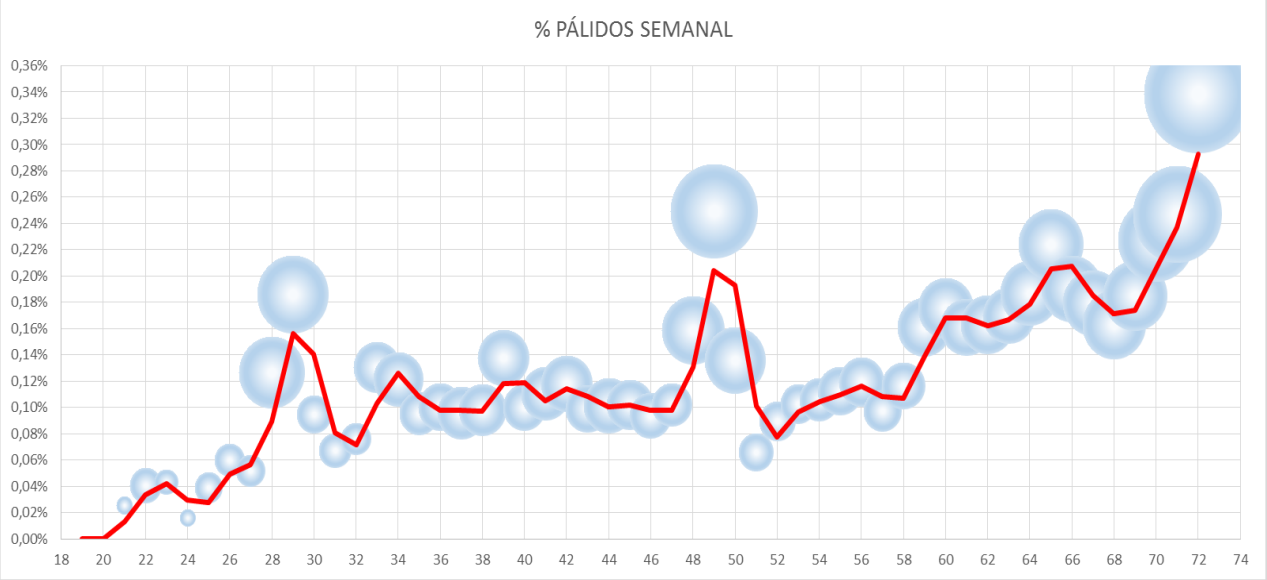


Fig. 8. Patrón gráfico del porcentaje de huevos pálidos en gallinas alojadas en la explotación.



La representación gráfica del porcentaje semanal de huevos sucios nos muestra una primera fase de inestabilidad previa al pico de puesta. En esa fase, el mayor porcentaje de huevos sucios se corresponden con huevos pequeños, huevos recalcificados y huevos con polvo (Hernándiz, A., 2013). Tras la adaptación de las aves a la oviposición en el nidal alcanzando el pico de puesta (26-28 semanas de vida), el porcentaje de huevos sucios se estabiliza alrededor del 3 y progresa hasta el 5% hasta la 58-60 semanas de vida. En esta fase, los huevos están sucios, mayoritariamente, de heces. Desde las 60 semanas de vida hasta el fin de ciclo, el porcentaje de huevos sucios aumenta progresiva y exponencialmente desde el 5% al 10%. En este periodo los huevos varían la tipología de suciedad, desde sucios de heces a, mayoritariamente, sucios de clara y yema.

La representación gráfica del porcentaje semanal de huevos fisurados nos muestra de nuevo una primera fase de inestabilidad (mucho menor y más corta que en el caso de los huevos sucios) previa al pico de puesta, en la que predominan las roturas y macrofisuras abiertas (Hernándiz, A., 2013). Tras la adaptación de las aves a la oviposición en el nidal alcanzando el pico de puesta (26 semanas de vida), el porcentaje de huevos fisurados se estabiliza entorno al 2,5% y progresa hasta el 4% hasta la 58 semanas de vida. En esta fase los huevos presentan mayoritariamente fisuras visibles (frías o en caliente). Desde las 58 semanas de vida hasta el fin de ciclo, el porcentaje de huevos fisurados aumenta progresiva y exponencialmente desde el 4% al 8-9%. En este periodo los huevos varían la tipología de fisura, desde las visibles a la microfisuras longitudinales y en estrella.

La representación gráfica del porcentaje de huevos pálidos semanal es la que presenta mayor variabilidad en los datos, aunque nos permite intuir una primera fase de incremento exponencial, relacionado con la producción de huevos recalcificados, diana y decolorados (Hernándiz, A., 2013) a causa de la adaptación etológica de las aves a la oviposición en el nidal. Una vez corregido este desequilibrio etológico, el porcentaje semanal de huevos pálidos se estabiliza entorno al 0,10-0,12% hasta la semana 46, momento en el que se produce un fuerte incremento de huevos pálidos en los lotes de esta explotación, aunque con una elevada variabilidad. Este pico de producción de huevos pálidos se corrige en unas 6 semanas, volviéndose a estabilizar entorno al 0,10-0,12% hasta la semana 58 de vida. Esta producción puntual de huevos pálidos coincide con un historial reiterado, en los diferentes lotes de gallinas alojadas en la explotación, de micoplasmosis respiratorias. La seroconversión (incremento de inmunoglobulinas específicas para Mycoplasma Gallisepticum) suele empezar sobre la semana 40-42 de vida, mientras que los síntomas respiratorios suelen empezar a manifestarse sobre la semana 44-46 de vida. Esta situación también puede estar relacionada con la disminución del peso medio del huevo que aparece a esta misma edad. El tratamiento con macrólidos orales vía agua de bebida redujeron los síntomas clínicos y la producción de huevos pálidos. A partir de la semana 58 de vida se produce un incremento exponencial pero con elevada variabilidad entre lotes (en función de cómo de agotado metabólicamente llega cada uno) desde el 0,12% hasta el 0,30% que se alcanza al final del ciclo. La mayoría de estos huevos pálidos son decolorados y con cáscara frágil.

Patrones de color de cáscara.

En la Tabla 1 se representan los resultados derivados del estudio previo de equivalencias de color realizando lecturas en la escala “L”, “a”, “b” mediante colorímetro Minolta sobre el patrón colorimétrico del “abanico Cargill” para la medición del color de la cáscara, y realizando la equivalencias sobre imágenes reales de cáscaras de huevo marrón. Esta tabla permitirá trasformar las lecturas en el espacio de color CIELAB de los posteriores ensayos, a imágenes reales.

Color de cáscara experimento 1.

En las tablas 2 y 3 se representan los resultados obtenidos en el primer experimento (monitorización de un lote desde inicio de la producción). Las mediciones realizadas hasta la presentación de este artículo (resultados provisionales) se han llevado a cabo en la semana 22, 25, 28 y 31 de vida.

El peso medio del huevo incrementa significativamente a lo largo de las semanas de producción, siendo éste un lote que está poniendo los huevos más pesados con respecto al estándar de esta explotación, lo que podría provocar una mayor degradación de la cáscara hacia el final del ciclo de producción. Este incremento de peso de los huevos provoca un rápido cambio en el porcentaje de las clases comerciales producidas, reduciéndose rápidamente la producción de huevo de clase “S” y más lentamente la producción de huevo de clase “M”. Con respecto a la medición del color, se puede observar cómo, a lo largo de las 9 semanas de mediciones, la luminosidad se reduce a medida que se estabiliza la puesta del lote, así como su

variabilidad. En sentido aditivo, aumenta la cromaticidad en rojo y se reduce su variabilidad. Estas medidas colorimétricas objetivas muestran la tendencia de cómo el color de la cáscara de los huevos puestos por este lote se torna más marrón y menos pálido a medida que se estabiliza la puesta, reduciéndose además la variabilidad entre ellos.

Tabla. 1. Tabla de equivalencias entre lecturas colorimétricas en espacio CIELAB, valores de "abanico Cargill" e imágenes reales de huevos de cáscara marrón.

	Número Cargill	"L"	"a"	"b"
	4	>76	<5	<20
	5	<72	>6	<22
	6	<72	>7	<24
	7	<70	>8	<26
	8	<68	>12	<28
	9	<65	>15	<28
	10	<62	>17	<28
	11	<58	>18	<28
	12	<56	>19	<28
	13	<52	>20	<28

Al transformar los valores CIELAB en valores de "abanico Cargill" encontramos una menor variabilidad estadística del color de la cáscara a lo largo de las 9 semanas de mediciones, aunque sí llega a manifestarse una mejora de color y reducción de la variabilidad entre la semana 22 y la 25 de vida. Esto se tradujo en una menor proporción de huevos "pálidos" (valor igual o menor a 10 en "abanico Cargill"). No se encontraron diferencias significativas entre el nivel de color, ni entre la proporción de huevos "pálidos" de las diferentes clases comerciales.

Tabla. 2. Resultados de peso medio de huevo, clasificación comercial y medición de color CIELAB en huevos tomados en el experimento 1.

Edad	n	PMH	PMH std	%XL	%L	%M	%S	"L"	"a"	"b"
22 sem.	216	55,4±6,3 **a**	52,3±2,3	2,8	5,1	58,3	33,8	57,1±4,1 **a**	27,4±3,7 **a**	18,5±2,6 **a**
25 sem.	176	62,1±6,2 **b**	58,2±2,7	4,6	35,8	57,4	2,3	55,9±3,6 **b**	29,1±2,4 **b**	19,7±2,2 **b**
28 sem.	328	63,9±5,4 **c**	61,7±1,5	4,0	55,2	39,6	1,2	55,5±4,1 **b**	29,4±2,0 **b**	19,8±2,4 **b**
31 sem.	314	65,6±5,2 **d**	63,4±1,3	6,7	67,2	26,1	0	56,1±3,8 **b**	29,6±2,0 **c**	19,3±2,3 **b**

Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre medias.

Tabla. 3. Resultados de trascripción de color CIELAB a "abanico Cargill" en huevos tomados en el experimento 1.

Edad	n	Cargill	% Huevos 11, 12 y 13	% Huevos ≤ 10	Cargill XL	Cargill L	Cargill M	Cargill S
22 sem.	216	11,3±1,3 **a**	65,3	34,7	11,3	11,4	11,5	11,1
25 sem.	176	11,8±1,1 **b**	81,3	18,7	11,8	11,7	11,9	11,4
28 sem.	328	11,8±1,1 **b**	82,9	17,1	11,3	11,8	11,9	11,5
31 sem.	314	11,8±1,1 **b**	79,6	20,4	11,7	11,8	11,6	-

Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre medias.

Color de cáscara experimento 2.

En las tablas 4 y 5 se representan los resultados obtenidos en el segundo experimento (monitorización de un lote desde semana 57 de vida). Las mediciones realizadas hasta la presentación de este artículo (resultados provisionales) se han llevado a cabo en la semana 57, 60, 63 y 66 de vida.

A lo largo de las 9 semanas analizadas, el peso medio del huevo no varió significativamente, a excepción de la medición realizada en la semana 66 en donde se redujo. Esa tendencia se reflejó en un escaso movimiento de porcentajes de las clases comerciales producidas, manteniéndose las de mayor peso (XL y L) hasta la última medición, en la que aumentó la cantidad de huevos M producidos. Con respecto a la medición del color, se puede observar cómo, a lo largo de las 9 semanas de mediciones, la luminosidad, la cromaticidad en rojo-verde y la cromaticidad en amarillo-azul se mantienen bastante estables a excepción de la medición realizada en la semana 63 de vida: la luminosidad se reduce (huevos menos pálidos), pero vuelve a aumentar significativamente (huevos más pálidos) en la semana 66, momento en el que se produce una reducción del peso medio del huevo y una reducción en cromaticidad roja (menos marrones). Esta circunstancia precedió a un aumento significativo de mortalidad de ese lote, relacionado con un cuadro de peritonitis-salpingitis colibacilar. Al transformar los valores CIELAB en valores de "abanico Cargill"

encontramos una cierta estabilidad de color a lo largo de las primeras 6 semanas de estudio, hasta manifestarse un empeoramiento del color de la cáscara en la última medición, siguiendo la tendencia que marcaban los parámetros CIELAB. Esto se tradujo en un aumento progresivo del porcentaje de huevos "pálidos" (valor igual o menor a 10 en "abanico Cargill") hasta alcanzar un salto proporcional significativo en la última medición. No se encontraron diferencias significativas entre el nivel de color, ni entre la proporción de huevos "pálidos" de las diferentes clases comerciales.

Tabla. 4. Resultados de peso medio de huevo, clasificación comercial y medición de color CIELAB en huevos tomados en el experimento 2.

Edad	n	PMH	PMH std	%XL	%L	%M	%S	"L"	"a"	"b"
57 sem.	205	68,7±5,7 **a**	66,9±0,9	23,9	66,3	9,3	0,5	57,7±4,3 **a**	19,5±2,9 **a**	29,7±2,8 **a**
60 sem.	182	69,3±5,2 **a**	66,9±1,1	28,0	63,2	8,8	0,0	57,4±4,1 **a**	19,4±2,7 **a**	29,9±2,4 **a**
63 sem.	310	68,5±5,2 **a**	67,2±1,0	22,3	68,4	9,4	0,0	56,7±3,9 **b**	19,2±2,4 **a**	29,6±2,4 **a**
66 sem.	272	67,6±6,7 **b**	67,3±0,8	20,2	63,2	15,8	0,7	57,5±4,1 **a**	18,6±2,7 **b**	29,3±2,6 **a**

Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre medias.

Tabla. 5. Resultados de trascripción de color CIELAB a "abanico Cargill" en huevos tomados en el experimento 2.

Edad	n	Cargill	% Huevos 11, 12 y 13	% Huevos ≤ 10	Cargill XL	Cargill L	Cargill M	Cargill S
57 sem.	205	11,5±1,3 **a**	79,5	20,5 **a**	11,4	11,5	11,6	8,5
60 sem.	182	11,5±1,2 **a**	76,4	23,6 **a**	11,6	11,4	11,3	-
63 sem.	310	11,6±1,1 **a**	76,8	23,2 **a**	11,5	11,6	11,5	-
66 sem.	272	11,3±1,3 **b**	67,6	32,4 **b**	11,4	11,3	11,0	11,0

Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre medias.

Conclusiones

En el presente estudio se aporta una sólida base de datos de campo (no experimentales) hasta ahora no disponible, obtenida a partir de 20 lotes de gallinas ponedoras alojadas en jaulas enriquecidas que, aunque obtenidas en una explotación con particularidades (modelo de jaula enriquecida y sistema de clasificación automatizada de los huevos), puede actuar como referencia-patrón de producción en modelo europeo de jaula enriquecida. Así mismo se aportan datos precisos (aunque preliminares) sobre la evolución del color de la cáscara en diferentes lotes de producción. La combinación, así como su cruzamiento, de la información derivada puede ser una herramienta valiosa a la hora de detectar precozmente la aparición de problemas etológicos, nutricionales o sanitarios. El estudio continuará con la monitorización de un lote hasta el final del ciclo y la evaluación de la efectividad en la aplicación de tratamientos que pretendan mejorar el color de la cáscara y la calidad de la cutícula. Estos tratamientos podrían aportar importantes ventajas comerciales (mejorar la dispersión de color dentro del paquete de la docena de huevos) y sanitarias, ya que contribuirían a mejorar la resistencia del huevo frente a la penetración de patógenos a su interior. Se requiere más

investigación práctica que aporte herramientas diagnósticas al técnico avícola de puesta que se encuentra en un momento de cambio productivo crucial en la Unión Europea.

Bibliografía

BAIN, M., MCDADE, K., BURCHMORE, R., LAW, A., WILSON, P. W., SCHMUTZ, M., PREISINGER, R., DUNN, I. C. (2013). Enhancing the egg's natural defense against bacterial penetration by increasing cuticle deposition. *Animal Genetics* http://dx.doi.org/10.1111/age.12071.

BAIRD, T., SOLOMON, S.E. & TEDSTONE, D.R. (1975). Localization and characterization of egg shell porphyrins in several avian species. *British Poultry Science*, **16**: 201-208.

BUTCHER, G. D. AND MILES, R. D. (2003). Factors causing poor pigmentation of brown-shelled eggs. Document VM94. Series of the Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida, Gainesville.

CHARLTON, B. R., TIWARY, A. K., BICKFORD, A. A., FILIGENZI, M. (2005). Acute depigmentation of fertile brown eggs in a commercial layer operation. *J. Vet. Diagn. Invest*., **17**: 286-288.

DE REU, K., GRIJSPEERDT, K., MESSENS, W., HEYNDRICKX, A., UYTTENDAELE, M. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis. *International Journal of Food Microbiology*, **112**: 253-260.

HERNANDIZ, A. (2013) Jaulas enriquecidas y sistemas de detección de calidad de cáscara del huevo: resultados preliminares. *Proceedings of 50th Spanish WPSA branch symposium. Lleida Spain.*

HUGHES, B. O., GILBERT, A. B., BROWN, M. F. (1986) Categorisation and causes of abnormal egg shells: relationship with stress. *British Poultry Science*, **27**: 325-337

JONES, D. R., MUSGROVE, M. T., ANDERSON, K. E., THESMAR, H. S. (2010). Physical quality and composition of retail shell eggs. *Poultry Science*, **89**: 582-587.

JONES, R.B. & HUGHES, B.O. (1986). Fearfulness and abnormalities in the chicken's egg shell. *Proceedings of the international symposium on applied ethology in farm Animals.* Pp. 171-175 (Baltonfured, Hungary, Hungarian Society of Agricultural Sciences).

KARUNAJEEWA, H., ABU-SEREWA, S., AND HARRIS, P. A. (1989). Effects of an induced pause in egg production and supplementation of the diet with iron on egg Shell color quality and performance of Brown egg layers. *British poultry Science,* **30**: 257-264

KEMPS, B. (2006). VIS/NIR spectroscopy for the assessment of internal egg quality. PhD Diss. Katholieke Universiteit Leuven, Heverlee, Belgium.

LANG, M. R., WELLS, J. W. (1987). A review of eggshell pigmentation. *World's Poultry Science Journal*, **43**: 238-246.

MARTÍNEZ–DE LA PUENTE, J., MERINO, S., MORENO, J., TOMAS, G., MORALES, J., LOBATO, E., GARCIA-FRAILE, S., MARTINEZ, J. (2007). Are eggshell spottiness and color indicators of health and condition in blue tits Cyanistes caeruleus? *Journal of Avian Biology*, **38**: 377-384.

MERTENS, K., VAESEN, I., LOFFEL, J., KEMPS, B., KAMERS, B., PERIANU, C., ZOONS, J., DARIUS, P., DECUYPERE, E., BAERDEMACKER, J., KETELAERE, B. (2010). The transmission color value: a novel egg quality measure for recording shell color used for monitoring the stress and health status of a brown layer flock. *Poultry Science*, **89**: 609-617.

MESSENS, W., GRIJSPEERDT, K., HERMAN, L. (2005). Eggshell penetration by Salmonella: A review. *World's Poultry Science Journal*, **61**: 71-85.

MIKSIK, I., ECKHARDT, A., SEDLAKOVA, P., MIKULIKOVA, K. (2007). Proteins of insoluble matrix of avian (Gallus gallus) eggshell. *Connect. Tissue Res.*, **48**: 1-8.

MILLS, A.D., MARCHIE, M. & FAURE, J.M. (1987). Extraneous egg shell calcification as a measure of stress in poultry. *British Polutry Science*, **28**: 177-181.

MORENO, J., OSORNO, J. L. (2003). Avian egg color and sexual selection: Does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? *Ecol. Lett.*, **6**: 803-806.

MORENO, J., LOBATO, E., MORALES, J., MERINO, S., TOMAS, G., MARTÍNEZ DE LA PUENTE, J., SANZ, J., MATEO, R., SOLER, J. (2006). Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird. *Behav. Ecol.*, **17**: 651-655.

NYS, Y., ZAWADSKI, J., GAUTRON, J. & MILLS A.D. (1991). Whitening of brown shelled eggs and mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. *Poultry Science*, **70**: 1236-1245

NYS, Y., HINCKE, M. T., ARIAS, J. L., GARCÍA-RUIZ, J. M., SOLOMON, S. E. (1999). Avian eggshell mineralization. *Poult. Avian Biol. Rev.*, **10**: 143-166

NYS, Y., GUYOT, N. (2011). Egg formation and chemistry. Pp 83-132 in Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products. Ed. Woodhead Publishing. Cambridge, UK.

ODABASI, A. Z., MILES, R. D., BALABAN, M. O., PORIER, K. M. (2007). Changes in Brown eggshell color as the hen ages. *Poultry Science*, **86**: 356-363.

OSTFELD, D. & TSUTSUI, M. (1974). Novel metalloporphyrins syntheses and implications. *Accounts of Chemical Research*, **7**: 51.

RODRÍGUEZ-NAVARRO, A. B., DOMÍNGUEZ-GASCA, N., MUÑOZ, A. & ORTEGA-HUERTAS, M. (2013) Change in the chicken egg shell cuticle with hen age and egg freshness. *Poultry Science*, **92**: 3026-3035.

ROSE-MARTEL, M., DU, M. J., HINEKE, M. T. (2012). Preteomic analysis provides new insight into the eggshell cuticle. *Journal of Proteomics*, **76**: 2697-2706.

SAMIULLAH, S. AND ROBERTS, J. R. (2013). The location of protoporphyrin in the eggshell of brown-shelled eggs. *Poultry Science*, **92**: 2783-2788.

SIEFFERMAN, L., NAVARA, K. J., HILL, G. E. (2006). Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (Sialia sialis). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **59**: 651-656.

WALKER, A. W. AND HUGHES, B. O. (1998). Egg shell colour is affected by laying cage design. *British Poultry Science*, **39**: 696-699

WANG, X. L., DENG, X. M., ZHAO, C. J., LI, J. Y., XU, G. Y., LIAN, L. S., WU, C. X. (2007). Study of the deposition process of eggshell pigments using an improved dissolution method. Poultry Science, 86: 2236-2238. Roland, D. A. (1979). Factors influencing Shell quality of aging hens. *Poultry Science*, **58**: 774-777.

WANG, X. L., ZHENG, J. X., NING, Z. H., QU, L. J., XU, G. Y., YANG, N. (2009). Laying hen performance and egg quality of bue shelled layers as affected by different housing systems. *Poultry Science*, **88**: 1485-1492.

WEDRAL, E. M., VADEHRA, D. V., BAKER, R. C. (1974). Chemical composition of the cuticle, and the inner and outer shell membranes from eggs of Gallus gallus. *Comp. Biochem. Physiol. B*., **47**: 631-640.

WELLMAN-LABADIE, O., LEMAIRE, S., MANN, K., PICMAN, J., HINCKE, M. T. (2010). Antimicrobial activity of lipophilic avian eggshell surface extracts. *J. Agric. Food Chem*., **58**: 10156-10161.

WELLMAN-LABADIE, O., PICMAN, J., HINCKE, M. T. (2008). Antimicrobial activity of the anseriform outer eggshell and cuticle. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem.Mol. Biol*., **149**: 640-649.

WHITTOW, G. (1999). Sturkie's Avian Physiology. 5th ed. Springer-Verlag Inc., New York, NY.